

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan 6 kali perlakuan yang menggambarkan pengaruh lama penyimpanan *pooled sera* pada suhu -20°C terhadap kadar glukosa darah. Variabel bebas dari penelitian ini adalah lama penyimpanan *pooled sera* dan variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah. Pengulangan pada penelitian ini didapat dari rumus *Fredererr* $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t adalah jumlah perlakuan dan n adalah banyaknya pengulangan (Prihanti, G. S., 2016). Setelah perhitungan didapatkan pengulangan pada penelitian ini sebanyak 4 kali pengulangan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia di Bandar Lampung.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Juli 2022.

C. Subyek Penelitian

1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah *pooled sera* yaitu serum sebanyak 6 ml yang diperoleh dari sisa serum pasien Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia. Kemudian diproses dan disimpan di *freezer* suhu -20°C di Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia di Bandar Lampung. *Pooled sera* dilakukan perlakuan 6x dengan masing-masing perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan..

2. Obyek penelitian

Obyek penelitian ini adalah kadar glukosa darah yaitu nilai glukosa darah *pooled sera* yang diperoleh sebelum penyimpanan (0 hari) dan setelah penyimpanan di *freezer* suhu -20°C pada hari ke 7, 14, 21, 28 dan 35 di Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia di Bandar Lampung.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 1. Tabel Definisi Operasional

No	Jenis Variabel	Definisi	Alat Ukur	Metode	Hasil Ukur	Skala
1	Variabel independen : Lama penyimpanan <i>pooled sera</i>	Waktu penyimpanan <i>pooled sera</i> meliputi 0 hari, 7 hari, 14 hari, 21 hari, 28 hari, 35 hari	Kalender	Observasi	hari	Interval
2	Variabel Dependen : Kadar glukosa <i>Pooled sera</i>	Hasil pemeriksaan kadar glukosa pada <i>pooled sera</i>	Fotometer	GOD PAP	mg/dl	Rasio

E. Pengumpulan data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan cara melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah sebelum disimpan dan setelah disimpan pada suhu -20°C dengan variasi hari penyimpanan meliputi 7 hari, 14 hari, 21 hari, 28 hari dan 35 hari. Data diperoleh dengan mengukur secara berulang yaitu sebanyak empat kali pengulangan terhadap obyek penelitian untuk mendapatkan data primer.

Adapun tahapan-tahapan yang dilakukan adalah :

1. Persiapan alat dan bahan
 - a. Tahap pembuatan *pooled sera*
 - 1) Alat
 - Labu erlenmeyer 500 ml
 - *Freezer*
 - Batang pengaduk
 - Gelas ukur 50 cm
 - Kain kasa steril
 - Botol aliquot 1,8 ml, screwed cup
 - Corong
 - Shaker / magnetik stirer
 - Sarung tangan

2) Bahan

- Sisa serum
- Etilen glikol

b. Tahap pemeriksaan glukosa darah

1) Alat

- *Automatic Biochemistry Analyser Kenza 240 TX*

2) Bahan

- *Pooled sera*
- H₂O
- Larutan Oppo Extran
- Reagen glukosa darah
- Standar glukosa darah

2. Pembuatan *pooled sera*

a. Sterilisasi

Alat/bahan yang perlu disterilkan adalah labu erlenmeyer, botol aliquot, batang pengaduk, gelas ukur, pipet dan corong.

b. Pengumpulan serum

Melakukan pengumpulan sisa serum pasien sampai cukup sebanyak 9 ml yang dikumpulkan dari pasien untuk pembuatan serum kontrol jernih 6 ml dalam labu erlenmeyer dan disimpan beku dalam *freezer*. Serum pasien harus dipilih yang memenuhi syarat (tidak hemolisis, tidak ikterik, tidak lipemik).

c. Perhitungan volume serum yang dibutuhkan

Asumsi kebutuhan serum untuk 1 hari = 1 ml

Kebutuhan untuk 6 kali perlakuan (0, 7, 14, 21, 28, 35 hari) = 6 x 1 ml = 6 ml

d. Pembuatan *pooled sera*

- 1) Serum yang terkumpul sebanyak 9 ml dalam labu erlenmeyer yang tersimpan beku dalam *freezer*, dikeluarkan dan dibiarkan mencair pada suhu kamar.
- 2) Melakukan pengadukan kumpulan serum menggunakan batang pengaduk.
- 3) Serum kumpulan dipipet dan dibuang sebanyak 15% (1,5 ml).

- 4) Menambahkan etilen glikol sebanyak 1,5 ml ke dalam labu berisi serum kumpulan, kemudian aduk hingga homogen.
- 5) Setelah tercampur homogen, saring dengan kain kasa steril ke dalam labu erlenmeyer lain yang steril. Filtrasi dapat dilakukan lebih dari 1 kali sampai filtrat jernih.
- 6) Membagi ke dalam 6 cup sampel.
- 7) Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan sebelum disimpan dalam *freezer* (data 0 hari).
- 8) Kemudian disimpan pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

e. Pembuatan aliquot

- 1) Membagikan aliquot secara merata ke dalam botol kecil (jumlah 6 botol) dengan volume masing-masing ± 1 ml. setelah ditutup kemudian disimpan dalam *freezer* hingga beku.
- 2) Melakukan tes secara acak untuk mendeteksi adanya penyakit berbahaya seperti HIV, HBsAg, dan HCV.
- 3) Setiap hari kerja apabila akan dilakukan pemeriksaan, maka serum yang terbagi secara aliquot dikeluarkan sebanyak 1 botol untuk pemeriksaan pada hari tersebut. Sisa serum ini tidak boleh dibekukan kembali dan pemeriksaan hari berikutnya menggunakan serum botol yang lain.

3. Pemeriksaan glukosa darah

- a. Menyiapkan cup sampel yang berisi *pooled sera*
- b. Masukkan sampel ke dalam cup sampel kemudian klik "*patient entry*" kemudian masukkan identitas *pooled sera* dan pilih parameter pemeriksaan glukosa.
- c. Meletakkan cup sampel pada tray kenza di nomor yang sesuai pada nomor "*patient entry*" saat meng entry data dan parameter pemeriksaan pasien.
- d. Klik *exit* sampai muncul menu awal (tray kenza akan berwarna hijau di salah satu nomor tempat meletakkan sampel setelah pemeriksaan diorder).
- e. Memastikan reagen glukosa sudah ada pada tempatnya.
- f. Kemudian pilih start lalu pilih select test (untuk memilih parameter pemeriksaan yang akan di running atau diperiksa) yaitu glukosa.
- g. Kemudian pilih calibration + patient dan alat akan mulai bekerja.

- h. Menunggu hingga hasil kadar glukosa muncul.
- i. Kemudian mencatat hasil pada blanko pemeriksaan.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisa Univariat

Data yang didapatkan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk mengetahui perbedaan kadar rata-rata glukosa darah antara perlakuan lama penyimpanan *pooled sera* meliputi 0 hari, 7 hari, 14 hari, 21 hari, 28 hari dan 35 hari, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menunjukkan hasil pengukuran kadar glukosa darah dalam satuan mg/dl.

2. Analisis Bivariat

a. Uji normalitas data

Uji normalitas ini bertujuan untuk mengetahui apakah data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Sebab dalam statistik parametrik, distribusi data yang normal adalah sebuah keharusan dan merupakan syarat mutlak yang harus terpenuhi. Ada beberapa jenis uji statistik untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak, namun dalam penelitian ini, peneliti menggunakan uji statistic Shapiro-Wilk.

Uji Shapiro Wilk adalah sebuah metode atau rumus perhitungan sebaran data yang dibuat oleh shapiro dan wilk. Metode shapiro wilk adalah metode uji normalitas yang efektif dan valid digunakan untuk sampel berjumlah kecil. Dasar pengambilan keputusan dalam uji normalitas dengan Shapiro-Wilk adalah sebagai berikut:

- 1) Jika nilai signifikansi pada kolom Sig. > 0.05 maka data terdistribusi normal.
- 2) Jika nilai signifikansi pada kolom Sig. < 0.05 maka data tidak terdistribusi normal.

Jika didapatkan hasil Uji Normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dengan nilai Sig. > 0.05 maka data berdistribusi normal. sehingga salah satu syarat (tidak mutlak) dari uji Uji Anova Satu Arah sudah dapat terpenuhi. Jika didapatkan hasil Uji Normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dengan nilai Sig. < 0.05 maka data tidak berdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji alternatif nonparametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*.

b. Analisa Data

Uji *Kruskal Wallis* adalah uji nonparametrik berbasis peringkat yang tujuannya untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel independen yang berskala data numerik (interval/rasio) dan skala ordinal (Paramita, 2015). Uji *Kruskal Wallis* dipakai sebagai alternatif pengganti uji

Anova ketika persyaratan homogenitas variannya tidak terpenuhi.

Pengambilan keputusan berdasarkan nilai probabilitas (Sig.) = 0,05 ditentukan atas dasar pengambilan keputusan dengan cara sebagai berikut:

- a) Jika nilai probabilitas (Sig.) $> 0,05$, maka H_0 diterima, Artinya tidak ada pengaruh lama penyimpanan *pooled sera* pada suhu -20°C terhadap kadar glukosa darah.
- b) Jika nilai probabilitas (Sig.) $< 0,05$, maka H_0 ditolak (H_a diterima), Artinya ada pengaruh lama penyimpanan *pooled sera* pada suhu -20°C terhadap kadar glukosa darah.

G. Ethical Clearance

Peneliti mengajukan ethical clearance pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor surat: No.142/KEPK-TJK/X/2022 tanggal 24 Mei 2022. Penelitian ini tidak akan menimbulkan bahaya bagi lingkungan. Limbah dari proses penelitian ini dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah. Identitas subyek penelitian dirahasiakan. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti.