

### BAB III METODE PENELITIAN

#### A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah Eksperimental dan bertujuan untuk mengetahui perbedaan kemiringan mikropipet terhadap volume pemipetan.

#### B. Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

##### 2. Waktu

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Maret-April 2021.

#### C. Populasi dan Sampel

##### 1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah mikropipet volumetrik ukuran 10 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 500 $\mu$ l, dan 1000 $\mu$ l yang dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

##### 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mikropipet dengan ukuran 10 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 500 $\mu$ l, dan 1000 $\mu$ l.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

| No | Variabel Penelitian                                         | Definisi                                                                                              | Cara Ukur                              | Alat Ukur                      | Hasil Ukur | Skala |
|----|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------|------------|-------|
| 1  | Variabel bebas :<br>Pemipetan<br>kemiringan 30 <sup>0</sup> | Penggunaan<br>Mikropipet dengan<br>sudut kemiringan 30 <sup>0</sup>                                   | Diukur<br>menggunakan<br>busur derajat | Busur<br>Derajat               | Derajat    | Rasio |
| 2  | Variabel bebas :<br>Pemipetan<br>kemiringan 90 <sup>0</sup> | Penggunaan<br>Mikropipet dengan<br>sudut kemiringan 90 <sup>0</sup>                                   |                                        | Busur<br>Derajat               | Derajat    | Rasio |
| 3  | Variabel terikat :<br>Volume uji                            | Jumlah milliliter<br>aquadest yang dipipet<br>menggunakan<br>mikropipet 10ul,<br>100ul, 500ul, 1000ul | Ditimbang                              | Neraca<br>Analitik<br>Elektrik | Mg         | Rasio |

## E. Teknik Pengumpulan Data

### 1. Prosedur Pemeriksaan

#### a. Alat – alat

Mikropipet volumetrik 10 $\mu$ l, Mikropipet volumetrik 100  $\mu$ l, Mikropipet volumetrik 500  $\mu$ l, Mikropipet volumetrik 1000  $\mu$ l, tip biru, tip kuning, timbangan analitik 4 digit 0,0001 gram yang sudah terkalibrasi, penampung cairan, tissue

#### b. Bahan

Aquadest

### 2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah metode gravimetrik. Ini adalah metode yang digunakan laboratorium, khususnya untuk mengkalibrasi alat ukur volume.

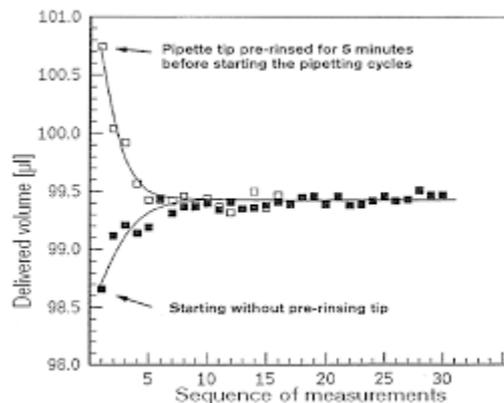
### 3. Pengambilan Sampel

#### a. Pre-Wetting

Untuk proses pengambilan data, diawali dengan pra pembasahan (*pre-wetting*) dengan cara :

- 1) Pasang tip dengan mikropipet
- 2) Masukkan mikropipet kedalam penampung cairan yang sudah berisi aquades
- 3) Isap aquades sampai *stopper A*
- 4) Keluarkan kembali dengan menekan *stopper B*
- 5) Lakukan sampai 5 kali pengulangan

Proses ini dilakukan supaya terjadi keseimbangan kelembaban di dalam rongga tip. Sebuah studi menunjukkan pengukuran volume pada mikropipet dengan volume nominal 100  $\mu$ l, volume uji akan mulai stabil setelah lima kali pra-pembasahan (lihat pada gambar 3.1).



Sumber : “Lochner, K. H., Feldmann, R., and Pfohl, J. (2013).

DKD Expert Report DKD-E 8-2 Analysis of influencing parameters on calibration of piston-operated pipettes with air cushions. (05).”

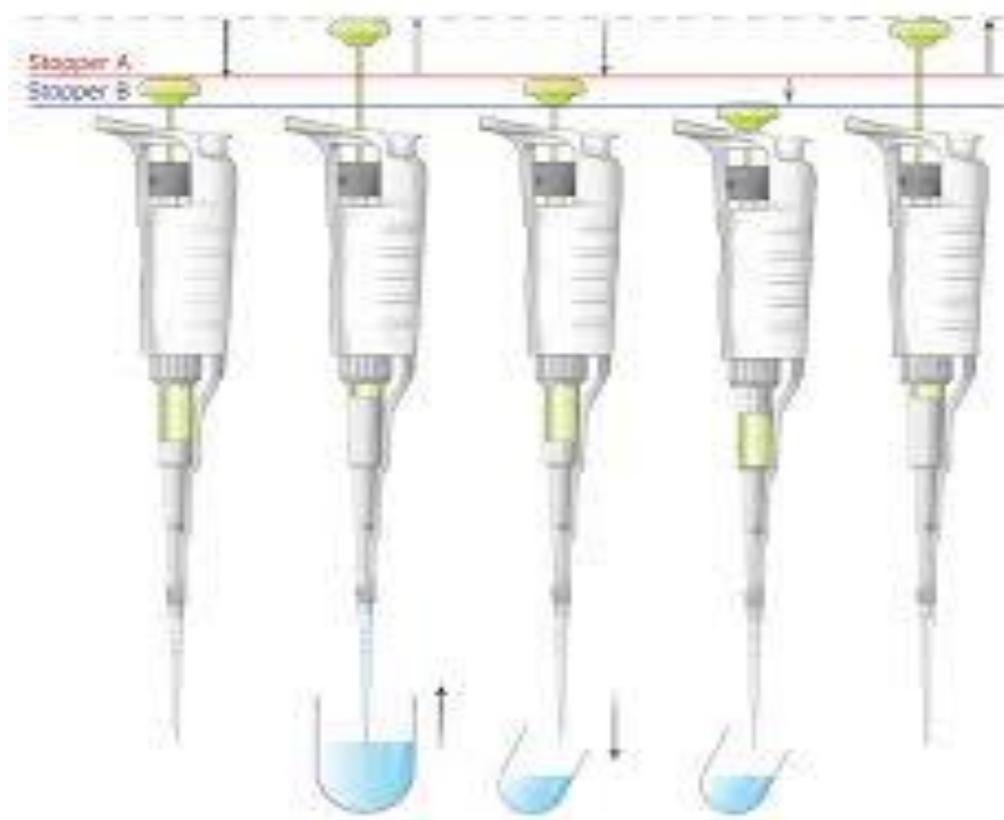
Gambar 3.1. Efek Pre-Wetting

Untuk itu pengambilan data dilakukan lima kali pra-pembasahan. Kemudian ganti “tips” nya dan basahi kembali.

#### b. Teknik Pipetting

Cara Kerja :

- 1) Cairan uji disedot menggunakan mikropipet volumetrik.
- 2) Kemudian cairan uji diisikan dengan menekan dengan *stopper A*
- 3) Batang pendorong ditarik perlahan, sedangkan untuk mengeluarkan cairan uji dilakukan dengan menekan batang pendorong hingga *stopper A*.
- 4) Untuk memastikan seluruh cairan keluar dengan sempurna maka batang pendorong ditekan hingga *stopper B*.
- 5) Lakukan proses transfer masing-masing volume aquades tersebut sebanyak 10 kali.



Sumber : W. Gilson, "Guide to Pipetting," Gilson Guid. to pipetting, vol. i, no. 2nd, pp.

1-23, 2005

Gambar 3.2. Proses Pengambilan Cairan.

### c. Penimbangan

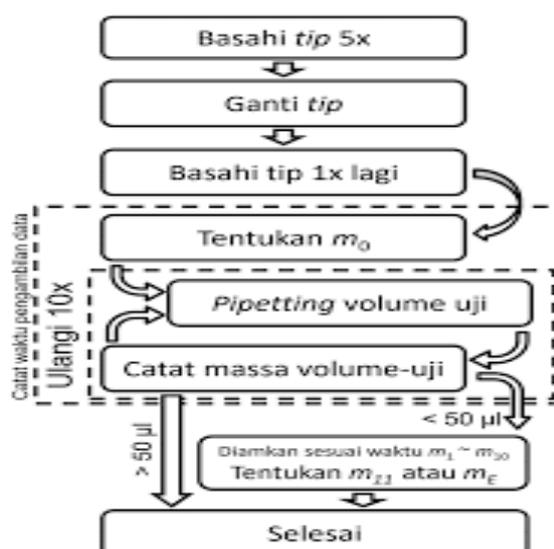
Cara Kerja :

- 1) Sambungkan timbangan analitik ke aliran listrik terlebih dahulu
- 2) Pastikan timbangan dalam keadaan bersih dan stabil
- 3) Tekan Tombol on/off yang teletak pada sebelah kanan atau kiri timbangan
- 4) Biarkan posisi angka pada display menjadi 0.0000
- 5) Jika angka tidak stabil auto zero kan timbangan dengan menekan tombol zero
- 6) Timbang botol timbangan dengan timbangan analitik, kemudian catat hasilnya misalnya A mg.
- 7) Isap aquades yang sudah diukur suhunya dengan pipet yang akan dikalibrasi, masukkan dalam botol timbang

Misalnya suhu aquades 25,1 °C tentukan berat jenisnya (BJ) dengan melihat pada tabel BJ aquades yaitu 0,997017. (daftar berat jenis aquades dapat dilihat pada tabel lampiran 1 dibawah ini)

- 8) Timbang penampung cairan dengan aquades yaitu (B-A)
- 9) Batas penyimpangan yang masih diperbolehkan sesuai dengan jenis pipet dapat dilihat pada tabel lampiran dibawah

Catatan : cara kalibrasi ini dapat dilakukan pula untuk labu volumetrik dan gelas ukur dan lain-lain



Sumber : Standar Nasional Satuan Ukuran., SNSU, PK.M-01:2020.

Gambar 3.2 Skema Penimbangan

## F. Pengolahan dan Analisa Data

### 1. Pengolahan data

Data yang diperoleh berupa data dari kesalahan acak (*random error*) , yaitu data yang didapat dari penelitian massa larutan pipetasi mikropipet volumetrik 10ul, 100ul, 500ul, 1000ul dari sudut kemiringan mikropipet volumetrik 30<sup>0</sup> dan 90<sup>0</sup> yang dilakukan penimbangan secara berulang yang dicatat dan di laporkan dengan tabel hasil pengamatan.

Rumus hitung massa aquades :

$$\text{Volume} = B - A$$

Dimana :

B = massa tabung isi

A = massa tabung kosong

## 2. Analisis data

### a. Analisis univariat

Hasil yang diperoleh dari perhitungan penimbangan secara berulang yang dicatat dan dilaporkan dengan tabel tersebut di analisis dengan menggunakan analisis univariat untuk mengetahui volume mikropipet 30<sup>0</sup> dan 90<sup>0</sup>.

Rumus hitung volume aquades :

Massa jenis aquades dalam gram/ml pada suhu 27°C = 1,0045

Massa jenis Aquades = 1 gr/mL = 1 mg/μL

$$\text{Volume} = \frac{\text{Massa Aquades (mg)}}{\text{Massa Jenis Aquades (mg/}\mu\text{L)}} \times \text{massa jenis aquades (}\mu\text{L/mg)}$$

### b. Analisis bivariat

Perhitungan akurasi dan presisi kemiringan mikropipet 30<sup>0</sup> dan 90<sup>0</sup>.

Berdasarkan Surat SOP (*Standard Operating Procedure*) produk mikropipet Eppendorf (2013), mikropipet yang layak pakai adalah mikropipet yang akurat dan presisi. Mikropipet harus akurat yaitu memiliki nilai pengukuran sesuai dengan yang diharapkan. Akurat atau tidaknya suatu mikropipet diukur melalui besarnya persentase error. Semakin kecil nilai persentase error, mikropipet semakin akurat. Berikut merupakan rumus perhitungan nilai persentase error :

$$E\% = \frac{V - V_0}{V_0} \times 100\%$$

E% = Persentase Error

V = Volume rata-rata dari hasil pengukuran

V<sub>0</sub> = Volume standar sesuai spesifikasi alat

Mikropipet juga harus presisi yang mana setiap kali pengukuran selalu memberi hasil pengukuran yang relatif sama. Presisi atau tidaknya suatu mikropipet ditentukan melalui besarnya relatif standar deviasi. Semakin kecil nilai relatif standar deviasi, mikropipet semakin presisi. Berikut merupakan rumus perhitungan nilai relatif standar deviasi :

$$RSD = \frac{SD}{V} \times 100\%$$

$$SD = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(V-V_1)^2}{N-1}}$$

RSD = Relatif Standard Deviation

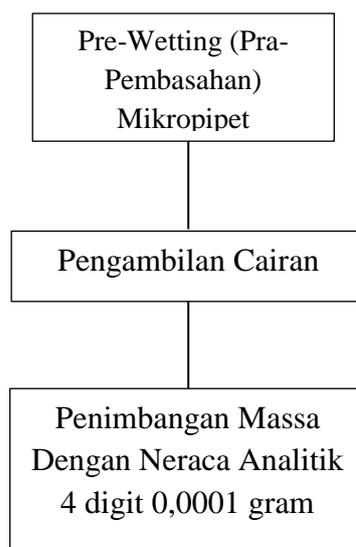
SD = Standard Deviation

$V_1$  = Volume masing-masing perhitungan

N = Jumlah perhitungan

Setelah diketahui akurasi dan presisi sudut kemiringan mikropipet  $30^0$  dan  $90^0$  maka data akan di analisis menggunakan data statistik uji T Independent untuk melihat perbedaan kemiringan mikropipet  $30^0$  dan  $90^0$ . Dan perbedaan presisi dan akurasi kemiringan mikropipet volumetrik  $30^0$  dan  $90^0$  pada volume pipetan.

### G. Skema Kerja Pemeriksaan



Bagan 3.1 Skema Kerja Pemeriksaan

### H. Ethical Clearance

Meskipun penelitian ini tidak menggunakan manusia sebagai subyek, namun tetap dilakukan telaah secara etik, penelitian ini akan dilakukan dengan izin dan persetujuan yang diberikan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Penelitian

yang dilakukan atas izin komisi etik ini tidak menimbulkan bahaya bagi lingkungan karena hanya memakai air desterilisasi sebagai bahan penelitian.