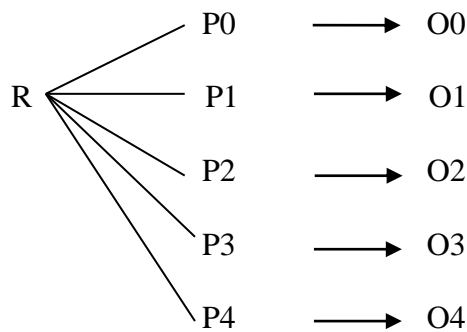


BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan bahan kontrol *pool* serum terhadap stabilitas kadar SGOT dan SGPT. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



Gambar 3.1 : Rancangan penelitian (Notoatmodjo, 2012)

Keterangan :

- R : Random
- P0 : Perlakuan yang tidak diberi pengaruh lama penyimpanan
- P1 : Perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 1 minggu
- P2 : Perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 2 minggu
- P3 : Perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 3 minggu
- P4 : Perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 4 minggu
- O0 : Observasi setelah Perlakuan yang tidak diberi pengaruh lama penyimpanan

- O1 : Observasi setelah perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 1 minggu
- O2 : Observasi setelah perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 2 minggu
- O3 : Observasi setelah perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 3 minggu
- O4 : Observasi setelah perlakuan dengan lama penyimpanan *pool* serum 4 minggu

3.2 Populasi dan Sampel Pemeriksaan

3.2.1 Populasi Penelitian

Dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah mahasiswa Universitas Muhammadiyah Surabaya Prodi D3 Analisis Kesehatan semester 6 dalam kondisi sehat.

3.2.2 Sampel Pemeriksaan

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 10 sampel *pool* serum. Yang terdiri dari 5 sampel SGOT dan 5 sampel SGPT, jumlah sampel tersebut diperoleh dari rumus dibawah ini :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4 = 4,75$$

$$n = 5$$

(Federer, 1963 dalam Ayi Furqon Dkk)

Keterangan :

n : Besar sampel

t : Banyaknya kelompok perlakuan

3.2.3 Teknik Sampling

Pengambilan sampel dengan cara random sampling atau dengan acak, yaitu dengan memilih secara acak dari anggota populasi.

3.2.4 Kriteria Sampel

Menggunakan sampel dengan kadar *Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) normal.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik D3 Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016 – Juni 2017. Sedangkan pemeriksaan uji laboratorium dilakukan pada bulan April 2017.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian dan Devinisi Operasional

3.4.1 Identifikasi Variabel

Variabel bebas : Lama penyimpanan

Variabel terikat : Stabilitas *pool* serum pada pemeriksaan SGOT dan SGPT

Variabel kontrol : Suhu *frezer*

3.4.2 Devinisi Operasional Variabel

3.4.2.1 Lama penyimpanan bahan kontrol dikategorikan menjadi penundaan pemeriksaan berdasarkan setiap minggu selama 1 bulan, yaitu : 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu,

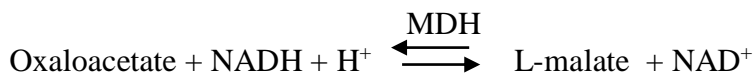
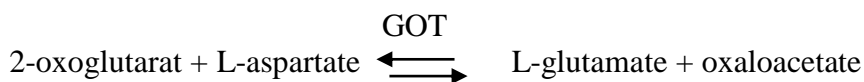
3.4.2.2 Stabilitas *pool* serum pada pemeriksaan SGOT dan SGPT ditentukan dengan menghitung koefisien variasi dinyatakan dalam persen (%), dihitung dengan rumus $CV = SD/Rerata \times 100\%$. Dikatakan stabil apabila nilai CV tidak melebihi batas yang telah ditetapkan.

3.5 Pengumpulan Data dan Analisis Data

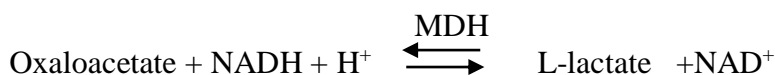
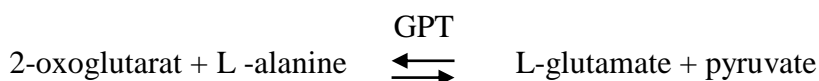
3.5.1 Teknik Pengumpulan Data

Data stabilitas penyimpanan bahan kontrol diperoleh dengan cara uji laboratorium. Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT menggunakan metode kinetik enzimatik. Langkah-langkah pemeriksaanya diantaranya sebagai berikut :

3.5.1.1 Prinsip Pemeriksaan SGOT



3.5.1.2 Prinsip Pemeriksaan SGPT



3.5.1.3 Metode Pemeriksaan SGOT

Metode kinetik untuk penentuan aktivitas ASAT (*aspartate aminotransferase*) sesuai dengan rekomendasi dari pakar federasi kimia klinik internasional tanpa aktivasi pyridoxalphospat.

3.5.1.4 Metode Pemeriksaan SGPT

Metode kinetik digunakan untuk penentuan aktivitas ALAT (*alanine aminotransferase*) sesuai dengan rekomendasi dari pakar federasi kimia klinik internasional tanpa aktivasi pyridoxalphospat .

3.5.1.5 Alat –Alat

- | | |
|-------------------------------------|-----------------|
| 1. Spektrofotometri (Erba Mannheim) | 5. Tabung |
| 2. Mikro pipet | 6. Rak tabung |
| 3. Tip (yellow dan blue) | 7. Beaker glass |
| 4. Tissue | 8. Botol putih |

3.5.1.6 Bahan Pemeriksaan

1. *Pool* serum

3.5.1.7 Pembuatan *pool* serum

1. Pengambilan darah vena

Alat : tourniquet, spuit 3cc, tabung, sentrifuge, kapas alcohol, plester

Prosedur :

- a. Posisi lengan pasien harus lurus. Memilih lengan yang banyak melakukan aktifitas.
- b. Pasien diminta untuk mengepalkan tangan.
- c. Memasangkan tourniquet \pm 10 cm diatas lipatan siku.

- d. Memilih bagian vena mediana cubiti atau cephalic sebagai tempat penusukan.
 - e. Membersihkan kulit pada bagian yang akan diambil darahnya dengan alkohol 70% biarkan kering untuk mencegah terjadinya hemolisis dan rasa terbakar. Kulit yang sudah dibersihkan jangan dipegang lagi.
 - f. Menusuk bagian vena tadi dengan lubang jarum menghadap keatas dengan kemiringan 15° .
 - g. Setelah volume darah dirasa cukup, dilepas tourniquet dan pasien diminta untuk membuka kepalan tangannya.
 - h. Setelah tourniquet dilepas kemudian jarum ditarik. Meletakkan kapas alkohol 70% pada bekas penusukan untuk menghentikan perdarahan, plester bagian yang terkena tusukan. Kemudian masukan dalam tabung tanpa antikoagulan (Depkes, 2004).
2. Pembuatan *pool* serum
 - a. Darah dari pasien disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.
 - b. Kemudian serum diambil menggunakan mikropipet 1000 μ l setelah itu dicampurkan dalam suatu tabung reaksi.
 - c. Lalu dihomogenkan campuran serum tersebut dengan alat vortex.
 - d. Serum yang telah homogen diletakan dalam vial/ *cup* serum masing masing diisi dengan volume yang sama yaitu 500 μ l *pool* serum.

3.5.1.8 Reagen Pemeriksaan

Reagen SGOT

- | | | |
|---------|------------------------|-----------------|
| 1. BUFF | : buffer/enzyme reagen | |
| | Tris buffer (pH 7,8) | 100 mmol/l |
| | L-aspartate | 300 mmol/l |
| | LDH | $\geq 0,9$ kU/l |
| | MDH | $\geq 0,6$ kU/l |
| 2. SUB | : substrat | |
| | 2-Oxoglurat | 60 mmol/l |
| | NADH | 0,9 mmol/l |

Reagen SGPT

- | | | |
|---------|------------------------|-----------------|
| 1. BUFF | : buffer/enzyme reagen | |
| | Tris buffer (pH 7,5) | 150 mmol/l |
| | L-aspartate | 750 mmol/l |
| | LDH | $\geq 1,2$ kU/l |
| 2. SUB | : substrat | |
| | 2-Oxoglurat | 90 mmol/l |
| | NADH | 0,9 mmol/l |

3.5.1.9 Pembuatan *Working Reagen* SGOT dan SGPT

1. Menyiapkan wadah atau botol penampung *working reagen*.
2. Kemudian dipipet 1000 μ l SUB ditampung pada botol.
3. Lalu ditambahkan 2000 μ l BUFF yang dimasukkan dalam botol yang sama dengan SUB.

4. Setelah itu mencampurkan SUB dan BUFF hingga homogen dengan cara mengocoknya perlahan.
5. Simpan *working reagen* yang telah dibuat dalam kulkas.
6. *Working reagen* atau yang disebut reagen kerja tersebut stabil dalam waktu 4 minggu pada suhu 2-8°C.

3.5.1.10 Prosedur Pemeriksaan SGOT dan SGPT

1. Menghidupkan alat.
2. Memastikan settingan alat sesuai dengan parameter pemeriksaan.
3. Memastikan suhu spektrofotometer 37 ° C.
4. Menekan parameter pemeriksaan SGOT/SGPT pada spektrofotometer kemudian dicuci/*wash* dengan aquadest.
5. Kemudian dipipet 500 µl *working reagen*.
6. Dan dipipet 50 µl *pool* serum masukan dalam wadah yang sama.
7. Homogenkan sampel, baca absorbansi sampel 1 menit tepat setelah sampel dimasukan.
8. Tekan tombol penghisap sampel sampai berbunyi lalu lepaskan dan tunggu hasilnya.
9. Kemudian cetak hasil tersebut

3.5.2 Teknik Analisis Data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium, kadar SGOT dan SGPT bahan kontrol kemudian disajikan dalam bentuk tabel, sebagai berikut :

Tabel 3.1 hasil kadar SGOT pada bahan kontrol *pool* serum

No	Kode Sampel	Kadar SGOT (U/l) pada <i>pool</i> serum				
		0 minggu	1 minggu	2 minggu	3 minggu	4 minggu
1	A1					
2	A2					
3	A3					
4	A4					
5	A5					
	Jumlah					
	Rata-rata					
	Sd					

Tabel 3.2 hasil kadar SGPT pada bahan kontrol *pool* serum

No	Kode Sampel	Kadar SGPT (U/l) pada <i>pool</i> serum				
		0 minggu	1 minggu	2 minggu	3 minggu	4 minggu
1	B1					
2	B2					
3	B3					
4	B4					
5	B5					
	Jumlah					
	Rata-rata					
	Sd					

Tabel 3.3 koefisien variasi SGOT dan SGPT pada bahan kontrol *pool* serum

Lama penyimpanan	Rata-rata kadar SGOT	Rata-rata kadar SGPT
0 Minggu		
1 Minggu		
2 Minggu		
3 Minggu		
4 Minggu		
Rerata		
Total SD		
Koefisien variasi (%)		

Data pada tabel 3.1 dan 3.2 kemudian dianalisis untuk melihat pengaruh atau perbedaan rata-rata antar perlakuan menggunakan uji ANOVA dengan tingkat kesalahan 5% atau $\alpha=0.05$. Data pada tabel 3.3 kemudian dihitung untuk mengetahui stabilitas dengan rumus $KV = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{rerata}} \times 100\%$.

3.5.2.1 Hambatan Penelitian

Selama penelitian berlangsung peneliti mengalami beberapa hambatan kecil yaitu, manajemen waktu yang tidak teratur dan tertata, pengaruh suhu, cahaya, teknik pemipetan sampel dan reagen sehingga mendapatkan variasi hasil yang naik turun, masih membutuhkan banyak teori yang mendukung karya tulis ilmiah ini, sehingga masih banyak kekurangan. Selain itu suhu penyimpanan kurang bervariasi sehingga belum dapat diketahui pada suhu berapa bahan kontrol *pool* serum pada pemeriksaan SGOT dan SGPT tidak stabil.