

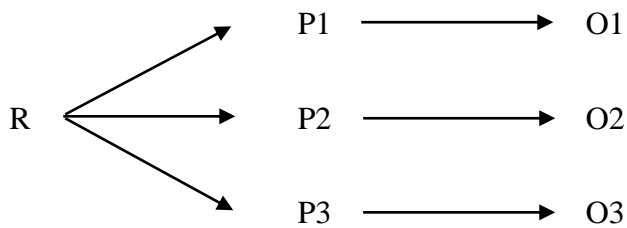
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu awal reagen terhadap hasil pemeriksaan kadar asam urat, dengan suhu awal reagen 15°C, 25°C dan 30°C.

Desain penelitian adalah sebagai berikut :



(Notoatmodjo S, 2012).

Keterangan :

R : Random.

P1 : Perlakuan reagen pada suhu 15°C.

P2 : Perlakuan reagen pada suhu 25°C (Kontrol).

P3 : Perlakuan reagen pada suhu 30°C.

O1 : Observasi kadar asam urat setelah P1.

O2 : Observasi kadar asam urat setelah P2 (Kontrol).

O3 : Observasi kadar asam urat setelah P3.

Catatan : Berdasarkan kit reagen pemeriksaan akan stabil jika dilakukan pada suhu 20-25°C atau 37°C. Maka dari itu suhu 25°C dalam penelitian ini dijadikan sebagai kontrol.

3.2 Populasi, Sampel dan Sampling

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa Universitas Muhammadiyah Surabaya prodi D3 Analis Kesehatan semester 6 kelas A tahun 2018.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah mahasiswa Universitas Muhammadiyah Surabaya prodi D3 Analis Kesehatan semester 6 kelas A tahun 2018 yang akan diambil darahnya dan diambil bagian serumnya yang diperoleh secara acak atau random. Besar sampel diperoleh berdasarkan rumus di bawah ini :

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

$$(3-1) (r-1) \geq 15$$

$$(2) (r-1) \geq 15$$

$$2r-2 \geq 15$$

$$2r \geq 15 + 2$$

$$2r \geq 17$$

$$r \geq 8,5$$

$$r \geq 9$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

r : Jumlah replikasi

(Notoatmodjo S dalam muntaha et al, 2015).

Dari perhitungan di atas maka diperoleh jumlah ulangan sampel sebanyak 9, dengan jumlah perlakuan 3 kali yaitu suhu 15°C, 25°C dan 30°C. Jadi data jumlah ulangan sampel dikalikan data jumlah perlakuan sama dengan 27 data.

3.2.3 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan mengambil sampel secara random atau acak.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Surabaya Jalan Raya Sutorejo No. 59, Dukuh Sutorejo, Mulyorejo, Kota Surabaya, Jawa Timur 60113.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai dengan bulan Juni 2018. Dengan waktu penelitian pada bulan April 2018.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suhu awal reagen.

2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar asam urat.

3.4.2 Definisi Operasional

1. Suhu awal reagen dalam penelitian ini adalah suhu awal reagen yang akan dilakukan pemeriksaan kadar asam urat, dalam penelitian ini dapat dibedakan berdasarkan suhu awal 15°C, 25°C, dan 30°C dikategorikan dalam skala ordinal.
2. Kadar asam urat dalam penelitian ini adalah angka yang menunjukkan nilai kadar asam urat di dalam darah yang dinyatakan dalam satuan (mg/dl) dengan metode PAP Enzimatis Kolorimetri dan diukur menggunakan alat spektrofotometer dikategorikan dalam skala rasio.

3.5 Pengumpulan dan Analisis Data

3.5.1 Pengumpulan Data

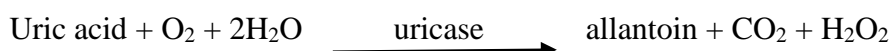
Data kadar asam urat dikumpulkan dengan cara pemeriksaan laboratorium.

Tahap pemeriksaan laboratorium adalah sebagai berikut :

1. Prinsip Pemeriksaan

Asam urat dapat ditentukan dengan reaksi uricase. H₂O₂ yang terbentuk bereaksi dengan katalis peroksida 3,5-dichloro-2-hydroxy benzene sulfonic (DCHBS) dan 4-aminophenazone (PAP) yang memberi warna merah keunguan sebagai indikator.

2. Reaksi



3. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Sputit
2. Torniquet
3. Kapas alkohol 70%
4. Kapas kering
5. Plaster
6. Centrifuge
7. Tabung vakum
8. Tabung reaksi
9. Rak tabung
10. Beaker glass
11. Termometer
12. Mikropipet
13. Blue tip
14. Yellow tip
15. Spektrofotometer
16. Cup serum
17. Label

4. Bahan

Bahan dari penelitian ini adalah sampel darah yang kemudian diambil bagian serumnya.

5. Reagen

Reagen yang dipakai dalam penelitian ini adalah Human. Dengan komposisi reagen sebagai berikut :

Phosphate buffer (pH 7,5)	50 mmol/l
4-Aminophenazone	0,3 mmol/l
DCHBS	4 mmol/l
Uricase	≥ 200 U/l
Peroxidase	≥ 1000 U/l

Standard

Uric acid	8 mg/dl
Sodium azide	0,095%

6. Prosedur Pemeriksaan

a. Tahap Persiapan Sampel

- 1) Dipersiapkan alat-alat yang diperlukan terlebih dahulu.
- 2) Lengan atas diikat dengan menggunakan karet pengikat/torniquet, kemudian tangan dikepalkan.
- 3) Vena yang akan ditusuk ditentukan terlebih dahulu, kemudian sterilkan dengan kapas berakohol 70%.
- 4) Jarum spuit/disposable syringe ditusuk dengan posisi 45° dengan lengan.
- 5) Setelah darah terlihat masuk dalam spuit, rubah posisi spuit menjadi 30° dengan lengan, kemudian hisap darah perlahan- lahan hingga volume yang diinginkan.

- 6) Setelah volume cukup, buka karet pengikat lengan kemudian tempelkan kapas beralkohol pada ujung jarum yang menempel dikulit kemudian tarik jarum perlahan-lahan.
- 7) Biarkan kapas beralkohol pada tempat tusukan, kemudian lengan ditekuk/dilipat dan biarkan hingga darah tidak keluar.
- 8) Darah yang telah diambil dipindahkan dari disposibel syringe ke dalam tabung vakum.
- 9) Jika spesimen ingin tetap dalam spuit, setelah darah dihisap kemudian dengan spuit yang sama dihisap pengawet/anti koagulan.
- 10) Darah pada tabung vakum diberi label atau kode sampel pemeriksaan.
- 11) Centrifuge darah pada tabung vakum saat darah benar-benar membeku.
- 12) Centrifuge dengan kecepatan 2500 rpm dalam waktu 10 menit.
(Kemenkes RI, 2002).

b. Tahap Persiapan Reagen

- 1) Pengondisian suhu awal reagen pada setiap perlakuan dilakukan dengan memasukkan reagen asam urat masing-masing 1000 μ l ke dalam tabung reaksi.
- 2) Pada suhu 15°C (sebagai perlakuan pertama) dipersiapkan 1 buah tabung digunakan untuk blanko, 1 buah tabung untuk standar dan 9 tabung digunakan untuk sampel.
- 3) Pada suhu 25°C (sebagai perlakuan kedua dan kontrol) dipersiapkan 1 buah tabung digunakan untuk blanko, 1 buah tabung untuk standar dan 9 tabung digunakan untuk sampel.

- 4) Pada suhu 30°C (sebagai perlakuan ketiga) dipersiapkan 1 buah tabung digunakan untuk blanko, 1 buah tabung untuk standar dan 9 tabung digunakan untuk sampel.
- 5) Dan, 1 buah tabung digunakan untuk kontrol suhu.
- 6) Setelah reagen dikeluarkan dari kulkas, suhu reagen diukur menggunakan termometer, ditunggu hingga suhu yang dikehendaki tercapai (suhu untuk setiap perlakuan tercapai).
- 7) Kemudian lakukan pemeriksaan kadar asam urat.
(Kustiningsih et al, 2017).

c. Tahap Pemeriksaan Sampel

- 1) Panjang gelombang (λ) 520 nm, Hg 546 nm.
- 2) Lintasan optik 1 cm.
- 3) Suhu 15 °C, 25°C dan 30°C.
- 4) Pengukuran gunakan reagen kosong (reagen blank).

Pipet dalam Kuvet	Reagen Blank	Sampel/Standar
Sampel/Standar	-	20 μ l
Reagen	1000 μ l	1000 μ l
Campur, inkubasi selama 10 menit pada suhu 15°C, 25°C dan 30°C. Baca pada absorbansi sampel/standar menggunakan reagen blank selama 15 menit.		

- 5) Perhitungan Kadar Asam Urat

$$\text{Asam urat (mg/dl)} = 8 \text{ (Concentration Standar)} \times \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}}$$

Dengan harga normal kadar asam urat :

Laki-laki : 3,4-7,0 mg/dl

Perempuan : 2,4-5,7 mg/dl

d. Standar Operasional Prosedur Alat Caretium

Tahap pemeriksaan sampel menggunakan alat spektrofotometer Caretium NB-201.

- 1) Menyalakan tombol on/off yang ada dibelakang alat.
- 2) Menunggu selama 15 menit.
- 3) Diklik “Measure” pada layar monitor.
- 4) Dipilih parameter kimia darah yang dibutuhkan (003 UA) pada layar.
- 5) Diklik “Zero”, kemudian memasukkan aquadest.
- 6) Diklik “RB”, untuk memasukkan Reagent Blanko.
- 7) Diklik “Standart”, untuk memasukkan Reagent Standart yang sudah diinkubasi.
- 8) Diklik “Sample”, untuk memasukkan Reagent Sample yang sudah diinkubasi. Dan seterusnya sampai sample terakhir. Untuk hasil akan muncul pada layar monitor berupa angka kadar asam urat dalam satuan mg/dl.
- 9) Selanjutnya diklik “Rinse” untuk proses pencucian alat sebanyak 3 kali.
- 10) Diklik “Exit” beberapa kali sampai kembali ke menu awal.
- 11) Diklik tombol on/off jika alat sudah digunakan.

3.5.2 Tabulasi Data

Data kadar asam urat yang diperoleh dari pemeriksaan ditabulasi sebagai berikut :

Tabel 3.1 Tabel Data Pemeriksaan Kadar Asam Urat Pada Suhu Awal Reagen 15°C, 25°C dan 30°C.

No.	Kode Sampel	Kadar Asam Urat (mg/dl) Pada Suhu Awal		
		15°C	25°C	30°C
1.	UA 1			
2.	UA 2			
3.	UA 3			
4.	UA 4			
5.	UA 5			
6.	UA 6			
7.	UA 7			
8.	UA 8			
9.	UA 9			
Jumlah				
Rata-rata				
SD				

3.5.3 Analisis Data

Untuk mengetahui apakah ada pengaruh suhu awal reagen dengan suhu awal 15°C, 25°C dan 30°C. Maka data dianalisis dengan uji Anova dengan tingkat kesalahan 5% atau $\text{sig} < 0,05$ menggunakan program SPSS (*Statistical Program Social Science*) versi 24.