

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian *posttest-Only Control Design* sebagai berikut:

Random	Perlakuan	Post Test
Kelompok P0	X	O (0)
Kelompok P1	X	O (1)
Kelompok P2	X	O (2)
Kelompok P3	X	O (3)
Kelompok P4	X	O (4)

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian (Sugiyono, 2010)

Keterangan :

P0 : Perlakuan yang tidak diberi waktu lama penyimpanan

P1 : Perlakuan waktu lama penyimpanan 1 minggu

P2 : Perlakuan waktu lama penyimpanan 2 minggu

P3 : Perlakuan waktu lama penyimpanan 3 minggu

P4 : Perlakuan waktu lama penyimpanan 4 minggu

O(0) : Observasi setelah perlakuan kontrol

O(1) : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 1 minggu

O(2) : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 2 minggu

O(3) : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 3 minggu

O(4) : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 4 minggu

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa D3 analis kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya tingkat tiga.

3.2.2 Sampel

Dalam penelitian ini sampel yang diambil adalah serum pemeriksaan albumin dan total protein pasien yang kadarnya normal sebanyak 50 *tube* serum, jumlah pengulangan sampelnya diperoleh dari rumus sebagai berikut :

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

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

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

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq \frac{19}{4} = 4,75 = 5$$

(Hidayat,2010)

Keterangan:

r : Replikasi/pengulangan sampel

t : Perlakuan

Jadi, jumlah pengulangan sebanyak 5 kali pada masing-masing pemeriksaan.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Farmalab Bangkalan.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan selama 4 minggu, yaitu Januari 2017- Juli 2017.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian dan Devinisi Operasional

3.4.1 Identifikasi Variabel

Variabel bebas : lama waktu penyimpanan

Variabel terikat : Stabilitas bahan kontrol *pool* serum pada pemeriksaan albumin dan total protein

3.4.2 Devinisi Operasional Variabel

1. Lama penyimpanan bahan kontrol *pool* serum dikategorikan menjadi penundaan pemeriksaan berdasarkan setiap minggu selama 4 minggu, yaitu: 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu.
2. Stabilitas lama penyimpanan ditetapkan berdasarkan kadar albumin dan total protein yang tidak menjadi berubah secara signifikan selama masa penyimpanan penyimpanan, yaitu tidak boleh lebih dari 2 SD.

3.5 Pengumpulan Data dan Analisis Data

3.5.1 Teknik Pengumpulan Data

Data stabilitas penyimpanan bahan kontrol *pool* serum diperoleh dengan cara penelitian eksperimental. Pemeriksaan albumin dan total protein. Prosedur pemeriksaannya sebagai berikut:

3.5.1.1 Pembuatan *pool* serum

A. Alat :

1. Tourniquet
2. Sduit 3cc
3. Kapas kering
4. Kapas alkohol 70%
5. Hepafix
6. Tabung reaksi

B. Prosedur :

1. Tourniquet dipasang pada lengan, kurang lebih 3 jari di atas lipatan.
2. Lengan dipalpasi (mencari letak vena). Dipilih bagian vena *mediana cubiti*.
3. Lokasi yang akan ditusuk dibersihkan dengan kapas alkohol 70% supaya terhindar dari kontaminasi mikroorganisme/bakteri.
4. Vena yang sudah dibersihkan tadi ditusuk dengan sduit 3cc.
5. Setelah volume mencapai 3cc, lepaskan tourniquet, lalu diletakkan kapas kering di atas tusukan (jangan ditekan supaya pasien tidak kesakitan). Tarik sduit pelan-pelan. Lalu tutup luka tusukan dengan hepafix/plester.

6. Darah tadi dimasukkan pada tabung reaksi. Tunggu hingga beku, kurang lebih 30 menit, agar ketika dicentrifuge tidak lisis. Kemudian centrifuge darah dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit.
7. serum dari beberapa orang dicampur menjadi satu dengan cara divortex.
8. pisahkan dalam beberapa cup serum.

3.5.1.2 Pemeriksaan Albumin

A. Prinsip :

Pengukuran serapan cahaya kompleks berwarna ungu dari albumin yang bereaksi dengan pereaksi biuret dimana, yang membentuk kompleks adalah protein dengan ion Cu^{2+} yang terdapat dalam pereaksi biuret dalam suasana basa. Semakin tinggi intensitas cahaya yang diserap oleh alat maka semakin tinggi pula kandungan protein yang terdapat di dalam serum tersebut.

B. Alat dan Reagen :

1. Tabung reaksi
2. Rak tabung reaksi
3. Pipet tetes
4. Pipet mikro
5. Spektrofotometer UV-Vis
6. Larutan Natrium Sulfit 25%
7. Ether
8. Pereaksi Biuret
9. Aquadest

C. Bahan Pemeriksaan : *Pool* serum

D. Prosedur Pemeriksaan Albumin

1. Disiapkan 3 tabung reaksi dan masing-masing diberi label larutan tes, larutan standar dan blanko.
2. Pada tabung test dimasukkan reagen albumin 1000 μ l dan ditambahkan *pool* serum 10 μ l. Dihomogenkan.
3. Pada tabung larutan standar dimasukan reagen pemeriksaan albumin 1000 μ l dan ditambahkan reagen standart 10 μ l. Dihomogenkan.
4. Pada tabung blanko dimasukkan reagen pemeriksaan albumin 1000 μ l.
5. Campuran tersebut ditangguhkan selama 14-30 menit, lalu dibaca dalam spektrofotometer pada panjang gelombang 540-546 nm.

6. Interpretasi Hasil

Nilai normal albumin dalam darah yaitu :

- | | | |
|-----------------------|---|----------------|
| a) Orang dewasa / tua | : | 3,5 – 5,0 g/dl |
| b) Anak-anak | : | 4 - 5,9 g/dl |
| c) Bayi | : | 4,4 – 5,4 g/dl |

3.5.1.3 Pemeriksaan Total Protein

A. Prinsip :

Terbentuknya senyawa kompleks berwarna ungu antara protein dalam serum dengan reagen biuret. Semakin pekat warna ungu yang dihasilkan maka kandungan protein yang terdapat dalam serum/plasma akan semakin tinggi. Kompleks yang terbentuk adalah kompleks koordinasi antara ion Cu^{2+} dengan gugus – CO dan – NH dari rantai peptide protein.

B. Tujuan :

Untuk mengetahui kadar protein dalam serum dengan menggunakan metode biuret.

C. Alat dan Reagen :

1. Tabung reaksi
2. Pipet mikro
3. Pipet ukur
4. Spektrofotometri
5. Aquades
6. Pereaksi Biuret
7. Standar protein

D. Bahan Pemeriksaan : *Pool* serum

E. Prosedur :

1. Disiapkan 3 tabung reaksi dan masing-masing diberi label larutan tes, larutan standar dan blanko.
2. Pada tabung test dimasukkan reagen total protein 1000 μ l dan ditambahkan *pool* serum 20 μ l. Homogenkan.
3. Pada tabung larutan standar dimasukkan reagen total protein 1000 μ l dan ditambahkan reagen standart 20 μ l. Homogenkan.
4. Pada tabung blanko dimasukkan reagen peme-riksaan total protein 1000 μ l.
5. Ketiga tabung uji digoyang-goyangkan dan di-inkubasi selama 30 menit.
6. Baca ketiga larutan tersebut pada spektrofoto-meter ($\lambda = 546 \text{ nm}$).

7. Dibaca absorbansi untuk masing-masing larutan dan dihitung kadar protein dalam serum.

8. Interpretasi Hasil

Nilai Normal = 6,6 – 8,5 gr/dl.

3.5.1.4 Teknik Analisis Data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium kadar albumin dan kadar total protein bahan kontrol *pool* serum kemudian dijadikan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 3.2 Hasil kadar albumin pada bahan kontrol pool serum

Kadar Albumin Serum Kontrol <i>Pool</i> Serum (gr/dl)					
Kode Replikasi	0 minggu	1 minggu	2 minggu	3 minggu	4 minggu
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
Jumlah					
Rata-rata					
SD					

Tabel 3.3 Hasil kadar total protein pada bahan kontrol pool serum

Kadar Total Protein Serum Kontrol <i>Pool</i> Serum (g/dl)					
Kode Replikasi	0 minggu	1 minggu	2 minggu	3 minggu	4 minggu
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
Jumlah					
Rata-rata					
SD					

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji laboratorium kemudian ditabulasi. Lalu data diuji anova dengan tingkat kesalahan 5% (0,05) dan diuji menggunakan uji CV (koefisien Variasi).

3.7 Hipotesis

Adanya pengaruh lama penyimpanan terhadap stabilitas bahan kontrol *pool* serum pada pemeriksaan albumin dan total protein.