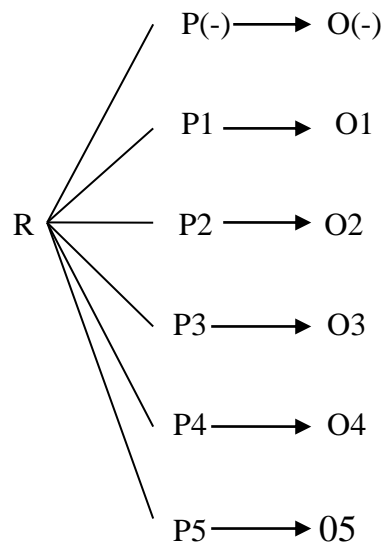


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan bahan kontrol *pool* serum terhadap kadar Bilirubin Total dan Direct. Dengan rencana penelitian sebagai berikut.



Gambar 3.1 : Rancangan penelitian (Maliki Z, 2003)

Keterangan :

R : Random

P(-) : Perlakuan yang tidak diberi pengaruh lama penyimpanan

P1 : Perlakuan waktu penyimpanan 1 minggu

P2 : Perlakuan waktu penyimpanan 2 minggu

P3 : Perlakuan waktu penyimpanan 3 minggu

P4 : Perlakuan waktu penyimpanan 4 minggu

P5 : Perlakuan waktu penyimpanan 5 minggu

O(-) : Observasi setelah perlakuan kontrol

O1 : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 1 minggu

O2 : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 2 minggu

O3 : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 3 minggu

O4 : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 4 minggu

O5 : Observasi setelah perlakuan penyimpanan 5 minggu

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1.1 Populasi

Dalam penelitian ini populasi yang diambil adalah kumpulan serum pemeriksaan Bilirubin Total dan Direct pasien yang kadarnya normal.

3.2.1.2 Sampel

Dalam penelitian sampel yang diambil adalah serum pemeriksaan Bilirubin dan Total dan Direct pasien yang kadarnya normal. sedangkan jumlah pengulangan sampelnya diperoleh dari rumus sebagai berikut :

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

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

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

$$n = 5$$

(Maliki Z, 2003)

Keterangan :

n : jumlah pengulangan

k : perlakuan

jadi jumlah pengulangan sebanyak 5 kali masing-masing pemeriksaan.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1.1 Lokasi pemeriksaan

Lokasi pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Farmalab Bangkalan Madura.

3.3.1.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April 2017 – Mei 2017.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1.1 Identifikasi Variabel

Variabel bebas(*Independent Variable*) : Lama penyimpanan bahan kontrol *pool* serum

Variabel terikat (*Dependent Variable*) : Kadar Bilirubin Total dan Direct

Variabel kontrol(*Control*) : Suhu *frezer*

3.4.1.2 Definisi Operasional Variabel

1. Lama penyimpanan bahan kontrol dikategorikan menjadi penundaan pemeriksaan berdasarkan setiap minggu selama 2 bulan, yaitu : 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu, 5 minggu.
2. Kadar bilirubin total dan direct.
3. Suhu *frezer*

3.5 Pengumpulan Data dan Analisis Data

3.5.1 Teknik Pengumpulan Data

Data stabilitas penyimpanan bahan kontrol diperoleh dengan cara observasi tidak langsung, yaitu dengan uji laboratorium. Pemeriksaan Bilirubin Total dan Bilirubin Direct menggunakan metode Jendrassik dan Groff. Langkah-langkah pemeriksaannya diantaranya sebagai berikut :

3.5.2 Pemeriksaan Bilirubin Total dan Bilirubin Direct

3.5.2.1 Prinsip Bilirubin Total

Bilirubin bereaksi dengan DSA (diazotized sulphanilic acid) dan membentuk senyawa azo yang berwarna merah. Daya serap warna dari senyawa ini dapat langsung dilakukan terhadap sampel bilirubin pada panjang gelombang 546 nm. Bilirubin glukuronida yang larut dalam air dapat langsung bereaksi dengan DSA, namun bilirubin yang terdapat di albumin yaitu bilirubin terkonjugasi hanya dapat bereaksi jika ada akselerator. Total bilirubin bilirubin direk + bilirubin indirek.

3.5.2.3 Alat Pemeriksaan Bilirubin Total dan Direct

- a) Mikro pipet
- b) Tabung reaksi
- c) Blue tip dan Yellow tip
- d) Tissue
- e) Reagen pereaksi
- f) Photometer

g) Parafilm

3.5.2.4 Bahan Pemeriksaan Bilirubin Total dan Direct

Pool serum

3.5.2.5 Pembuatan *pool* serum

1. Pengambilan darah vena

Alat : tourniquet, spuit 3cc, tabung reaksi, centrifuge, kapas alkohol, plesterin

Prosedur :

- 1) Lengan pasien harus lurus, jangan membengkokkan siku.
Pilih lengan yang banyak melakukan aktifitas.
- 2) Pasien diminta untuk mengepalkan tangan.
- 3) Tourniquet \pm 10cm diatas lipatan siku.
- 4) Perhatikan vena medianan cubiti atau chepalic.
- 5) 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.
- 6) Darah vena tadi diambil dengan menggunakan spuit dengan kemiringan 15°.
- 7) Saat volume darah cukup, lepaskan tourniquet dan pasien diminta untuk membuka kepala tangannya.
- 8) Tourniquet dilepaskan dan kemudian tarik jarumnya.
Letakkan kapas alkohol 70% pada bekas penusukan untuk menghentikan perdarahan, plesterin bagian yang terkena

tusukan. (Depkes RI, 2004) kemudian masukan dalam tabung tanpa antikoagulan.

- 9) Centrifuge selama 15 menit, lalu pisahkan serum kedalam cup sampel.

2. Pembuatan *pool* serum

- a. Darah dari 3 orang pasien centrifuge
- b. Serum diambil dan campurkan menjadi satu
- c. Vortek atau homogenkan campuran serum tersebut

3.5.2.6 Pemeriksaan Bilirubin Total

Reagen

Reagen Total Nitrit

Reagen Total Bilirubin

Prosedur :

1. Semua alat dan bahan dipersiapkan
2. Beri label disetiap tabung reaksi (Blanko dan Test)
3. Reagen Total Nitrit dimasukkan kedalam tabung Sampel
4. Reagen Total Bilirubin dimasukkan (1000ul) pada tabung Blanko dan Test.
5. Inkubasi selama 5 menit.
6. Pipet Sampel serum sebanyak 100ul dan masukkan ke dalam tabung blanko dan test.

7. Dicampur dan diinkubasi selama 10 – 30 menit dalam suhu kamar.
8. Diukur pada Fotometer dengan panjang gelombang 546 nm.
9. Catat hasil yang muncul pada display spektrofotometer.

3.5.2.7 Pemeriksaan Bilirubin Direct

Reagen

Reagen Direct Nitrit

Reagen Direct Bilirubin

Prosedur :

1. Siapkan semua alat dan bahan
2. Diberi label disetiap tabung reaksi (Blanko dan Sampel)
3. Reagen Direct Nitrit 40ul dimasukkan kedalam tabung sampel.
4. Reagen Direct Bilirubin 1000ul dimasukkan pada masing-masing tabung (blanko dan tes).
5. Campur dan diinkubasi selama 5 menit.
6. Masukkan serum sebanyak 100ul dan masukkan kemasing-masing tabung.
7. Campur dan inkubasi disuhu ruang tepat 5 menit.
8. Diukur pada Fotometer dengan panjang gelombang 546 nm.
9. Catat hasil yang muncul pada display spektrofotometer.

