

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan tujuan untuk mengetahui hasil pemeriksaan kadar HDL Kolesterol dengan menggunakan metode semi-mikro dan Makro.

Berdasarkan tujuan tersebut, maka rancangan *the post test-only group design* dan denah percobaan untuk penelitian ini sebagai berikut :



R = Sampel serum yang diambil secara Acak/Random

P₁= sampel serum dengan perlakuan semi-mikro

P₂= sampel serum dengan perlakuan makro

O₁= Hasil pembacaan pemeriksaan kadar HDL kolesterol dengan cara semi-mikro

O₂= Hasil pembacaan pemeriksaan kadar HDL kolesterol dengan cara makro

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi penelitian adalah Mahasiswa Prodi D3 Analis Kesehatan Semester 4 Universitas Muhammadiyah Surabaya yang berjumlah 125 orang.

3.2.2 Sampel

Sampel penelitian adalah Mahasiswa Prodi D3 Ahli Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Surabaya, yang didapatkan berdasarkan rumus berikut :

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

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

$$R \geq 15+1$$

$$R \geq 16 \text{ (Kusriningrum, 1989 :20)}$$

Ket :

t = Perlakuan treatment

R= jumlah sampel

Berdasarkan rumus jumlah sampel lebih besar sama dengan 16, sehingga peneliti memakai sampel berjumlah 16, yang diambil secara acak/random dari populasi.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi penelitian

Lokasi penelitian di Prodi D3 Ahli Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Surabaya. Sedangkan pemeriksaan Kadar HDL Kolesterol dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Prodi D3 Ahli Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu penelitian

Pelaksanaan Penelitian berlangsung mulai bulan Desember 2017-Juli 2018.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel penelitian

1. Variabel Bebas: Cara Semi-mikro Dan Makro.
2. Variabel Terikat : Kadar HDL kolesterol.

3.4.2 Definisi operasional variabel

1. Kadar HDL Kolesterol adalah angka jumlah HDL Kolesterol dalam darah dengan harga satuan mg/dl yang diukur dengan alat spektrofotometer.
2. Pemeriksaan Kadar HDL Kolesterol adalah nilai dari hasil pemeriksaan dengan cara Semi-mikro dan Makro berdasarkan prosedur yang ada.
 - a. Cara semi-mikro adalah analisis yang kuantitas zatnya sekitar 0,05 gram dengan volume yang dipakai sekitar 1 ml, suhu, ruang, sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit.
 - b. Cara Makro adalah analisis kualitatif yang kuantitas zatnya 0,5-1 gram dengan volume yang dipakai sekitar 20 ml, suhu ruang, sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data perbedaan kadar HDL kolesterol dengan cara semi-mikro dan makro dikumpulkan dengan observasi/pengamatan melalui pengujian laboratorium.

1. Instrumen Penelitian

- a. Seperangkat Alat pengujian HDL kolesterol
- b. Reagen HDL Kolesterol
- c. Interpretasi hasil Pembacaan pada spektrofotometer

2. Teknik Pengumpulan Data

a. Prinsip Pemeriksaan HDL Kolesterol

Chylmikron, VLDL (*very low density lipoprotein*) dan LDL (*low density lipoprotein*) dipresipitasi dengan penambahan asam phosphotungstat dan ion magnesium dalam sampel. Setelah disentrifugasi hanya tersisa HDL (*high density lipoprotein*) dalam supernatan yang ditentukan secara enzimatis.

b. Metode : Presipitasi LDL, VLDL dan chylmikron/metode CHOD-PAP.

c. Alat dan Bahan Pemeriksaan

1) Alat :

- a) Tabung reaksi
- b) Rak tabung
- c) Cup serum
- d) Mikropipet
- e) Sentrifuge
- f) Spektrofotometer
- g) Stopwatch / Timer
- h) Blue tip dan Yellow tip

2) Bahan :

- a) Kit Reagen Kolesterol
- b) Aquabidest

d. Spesimen :

Serum, heparin plasma atau EDTA

e. Komposisi Reagen :

- 1) **PREC** : Phosphotungstic acid, Magnesium chloride
- 2) **STD** : Standart Cholesterol

f. Persiapan reagen

- 1) Pengendapan untuk cara makro tidak perlu melakukan pengenceran **PREC**.
- 2) Pengendapan untuk cara semi-mikro perlu melakukan pengenceran **PREC**. Encerkan isi 1 botol **PREC** dengan 200 ml aquadest, atau encerkan 4 bagian dari botol dan 1 bagian dari aquadest (4+1).

g. Prosedur pemeriksaan

- 1) Pengambilan darah Vena
 - a) Setelah menempatkan jarum pada spuit, pastikan bahwa penghisap (piston) bergerak bebas dan jarum tidak tersumbat. Jarum dipastikan tidak menyentuh sesuatu sebelum digunakan.
 - b) Pasang torniquet \pm 10 cm diatas siku dan pilih vena yang akan disampling.
 - c) Kulit atas dan sekitar vena yang akan disampling dibersihkan dengan kapas alkohol 70% dan biarkan kering.
 - d) Kulit di atas vena ditegangkan dengan jari tangan kiri, kemudian tusuk vena dengan satu gerakan.
 - e) Perlahan hisap darah dengan spuit hingga jumlah darah yang diinginkan.
 - f) Torniquet dilepas kemudian ambil kapas dan letakkan diatas jarum, kemudian spuit ditarik dari vena.

g) Jarum dilepas dari spuit lalu masukkan darah kedalam tabung biasa tanpa anti koagulan, kemudian sentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Pisahkan serum dengan cara pipet dan letakkan pada cup serum.

2) Pemeriksaan HDL Kolesterol dengan cara Semi-mikro

a) Alat dan bahan yang diperlukan.disiapkan terlebih dahulu.

	Semi-mikro
Sampel	200 μ l
PRECb	500 μ l

b) Campur dengan baik, inkubasi selama 10 menit disuhu ruang,. Melakukan sentrifugasi selama 2 menit pada 1000 rpm atau selama 10 menit pada 3000 rpm.

c) Setelah sentrifugasi selesai, melakukan pemisahan supernatan dari endapan dalam 1 jam dan tentukan konsentarsi kolesterol.

d) Siapkan bahan pemeriksaan dan supernatan dalam proses penentuan kolesterol.

	Blanko	Std	Sampel
Dist.water	100 μ l	-	-
Std	-	100 μ l	-
HDL supernatan	-	-	100 μ l
Reagen kolesterol	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

e) Campur, inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C atau 10 menit pada suhu 20-25°C. Ukur absorbansi sampel dan standart. Masing-masing melawan reagen blank dalam 60 menit (AA).

3) Pemeriksaan HDL Kolesterol dengan cara Makro

a) Alat dan bahan yang diperlukan.disiapkan terlebih dahulu.

	Makro
Sampel	500 μ l
PRECa	1000 μ l

- b) Campur dengan baik, inkubasi selama 10 menit disuhu ruang. Kemudian melakukan sentrifugasi selama 2 menit pada 1000 rpm atau selama 10 menit pada 3000 rpm.
- c) Setelah sentrifugasi selesai, melakukan pemisahan supernatan dari endapan dalam 1 jam dan tentukan konsentarsi kolesterol.
- d) Siapkan bahan pemeriksaan dan supernatan dalam proses penentuan kolesterol.

	Blanko	Std	Sampel
Dut. water	100 μ l	-	-
Std	-	100 μ l	-
HDL supernatan	-	-	100 μ l
Reagen kolesterol	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

- e) Campur, inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C atau 10 menit pada suhu 20-25°C. Ukur absorbansi sampel dan standart. Masing-masing melawan reagen blank dalam 60 menit (AA).

h. Prosedur Alat: (SOP Caretium)

- 1) Menyalakan tombol on/off yang ada dibelakang alat.
- 2) Menunggu selama 15 menit.
- 3) Diklik "Measure" pada layar monitor.
- 4) Pilih parameter HDL Kolesterol yang dibutuhkan pada layar.

- 5) Diklik “Zero”, kemudian memasukkan aquadest.
- 6) Diklik “RB”, untuk memasukkan Reagent Blanko.
- 7) Diklik “Standart”, untuk memasukkan Reagent Standart yang sudah didiamkan.
- 8) Diklik “Sample”, untuk memasukkan Reagent Sample yang sudah didiamkan. Dan seterusnya sampai sample terakhir. Untuk hasil akan muncul pada layar monitor berupa angka kadar HDL kolesterol 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.

3.6 Metode Analisis Data

Data Kadar HDL Kolesterol yang diperoleh dari hasil pemeriksaan dengan cara Semi-micro dan Makro. Dapat dibuat tabel seperti dibawah ini :

Tabel 3.1 Contoh tabel hasil pemeriksaan Kadar HDL Kolesterol dengan Cara Semi-mikro dan Makro

No	Kode Sampel	Kadar HDL Kolesterol (mg/dl)	
		Semi-Mikro	Makro
1			
2			
3			
^s / _d			
20			
Jumlah			
Rata2			
SD			

Data yang diperoleh dari tabulasi tabel diatas dilanjutkan dengan uji Normalitas Data untuk mengetahui berdistribusi normal atau tidak, kemudian dilanjutkan dengan Uji T Berpasangan ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan pada pemeriksaan HDL kolesterol dengan cara Semi-mikro dan Makro.