

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai yaitu untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan kadar klorida pada plasma *lithium heparin* dengan penggunaan *separator tube* dan *vacutainer* pada pasien *post* hemodialisa, maka penelitian ini merupakan penelitian *pre experimental design* karena jenis ini belum merupakan eksperimen sungguhan dan masih terdapat beberapa faktor pengganggu yang dapat dikontrol tetapi tidak dapat diperhitungkan efeknya (Notoatmodjo, 2010).

2. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *Static Group Comparison*. Desain ini memiliki kelompok pembanding. Kelompok eksperimen menerima perlakuan (X) yang diikuti dengan pengukuran kedua atau observasi (O). Hasil observasi ini kemudian dikontrol atau dibandingkan dengan hasil observasi pada kelompok kontrol, yang tidak menerima program atau intervensi (Notoadmodjo, 2010). Pada penelitian ini sebagai kelompok eksperimen plasma *lithium heparin* yang dibuat dengan *separator tube*, sedangkan kelompok

pembandingan adalah plasma *lithium heparin* yang dibuat dengan *vacutainer* dan serum yang dibuat dengan *vacutainer plain*. Rancangan ini diilustrasikan pada Gambar 8.



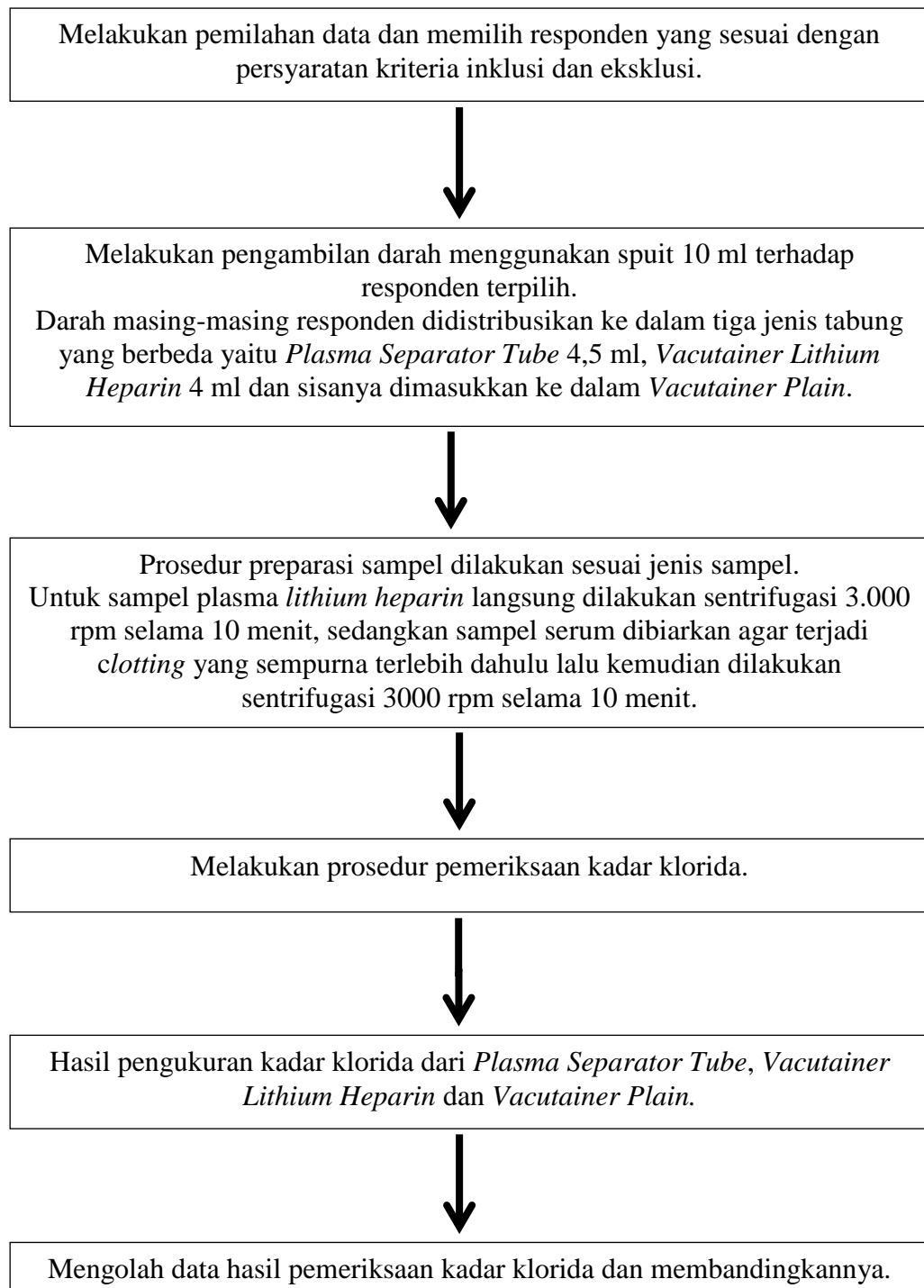
Gambar 8. Desain Penelitian

Sumber : Notoadmodjo, 2010.

Keterangan :

- X = Perlakuan (penggunaan gel pemisah)
- O = Kadar klorida plasma *lithium heparin* dari *separator tube*.
- O' = Kadar klorida plasma *lithium heparin* dari *vacutainer*.
- O'' = Kadar klorida dari serum dari *vacutainer plain*.

B. Alur Penelitian



Bagan 3. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah pasien Unit Hemodialisa yang telah selesai melakukan perawatan cuci darah (*post* hemodialisa) di RSUD Sleman.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah bagian dari pasien Unit Hemodialisa di RSUD Sleman yang telah selesai melakukan perawatan cuci darah (*post* hemodialisa). Menurut Dahlan (2010), penghitungan sampel menggunakan rumus analitik *komparatif numerik* tidak berpasangan sebagai berikut :

$$n = 2 \left[\frac{(z\alpha + z\beta)S}{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} \right]^2$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

α = 5% (Kesalahan tipe I)

$Z\alpha$ = 1,96 (Derivat baku α)

β = 5% (Kesalahan tipe II)

$Z\beta$ = 1,645 (Derivat baku β)

S = 0,528 (Simpangan baku gabungan, dari penelitian sebelumnya).

$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ = 0,691 (Selisih rerata dua kelompok, dari penelitian sebelumnya).

Perhitungan jumlah sampel minimal pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$n = 2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} \right]^2$$

$$n = 2 \left[\frac{(1,96 + 1,645) 0,528}{0,691} \right]^2$$

$$n = 2 [2,7546]^2$$

$$n = 2 [7,588]$$

$$n = 15,1758$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok adalah 16 sampel.

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *consecutive sampling*. Pada *consecutive sampling*, semua responden yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah responden yang diperlukan terpenuhi. Dengan menggunakan teknik tersebut, maka populasi memiliki kesempatan yang sama untuk dilakukan penelitian (Sastroasmoro dan Ismael, 2012).

Seluruh responden dalam penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi sedangkan responden dengan kriteria eksklusi tidak boleh digunakan. Berikut ini adalah kriteria inklusi yang peneliti gunakan :

- a. Semua pasien laki-laki dengan gagal ginjal kronik yang menjalani terapi hemodialisa di RSUD Sleman.
- b. Berusia 25 – 50 tahun.

- c. Bersedia menjadi responden penelitian dengan menandatangani *informed-consent*.
- d. Dapat berkomunikasi dengan baik.

Sementara itu, kriteria eksklusinya yaitu :

- a. Pasien yang tidak bersedia menjadi responden.
- b. Pasien yang mengalami perdarahan akut saat hemodialisa.
- c. Pasien dengan Leukemia/ Limfoma Hodgkin maupun Non-Hodgkin/*Multiple Myeloma*/ SLE (Sistemik Lupus Eritematosus).
- d. Pasien dengan tanda-tanda peradangan seperti *kalor* (panas), *dolor* (nyeri), *rubor* (merah), *tumor* (bengkak) dan *functio laesa* (gangguan fungsi).

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada tanggal 9 – 15 November 2018.

2. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Unit Hemodialisa RSUD Sleman sedangkan pemeriksaan klorida dilakukan di Laboratorium RSUD Sleman.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *vacutainer tube* yang digunakan yaitu *Plasma Separator Tube*, *Vacutainer Lithium Heparin* dan *Vacutainer Plain*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar klorida.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu merupakan variabel yang keberadaannya dapat mengganggu atau mempengaruhi variabel terikat sehingga menimbulkan hasil yang tidak diharapkan. Variabel pengganggu yang dikendalikan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Sampel hemolisis.
- b. Sampel ikterik.
- c. Sampel lipemik.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Vacutainer tube adalah tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik yang berfungsi untuk wadah penampung darah.

Plasma Lithium Heparin (PST) adalah salah satu jenis *vacutainer tube* yang mengandung antikoagulan lithium heparin dan gel pemisah.

Vacutainer Lithium Heparin adalah salah satu jenis *vacutainer tube* yang mengandung antikoagulan lithium heparin.

Vacutainer Plain adalah salah satu jenis *vacutainer tube* yang didalamnya tidak mengandung antikoagulan ataupun bahan *additive* lainnya.

Plasma lithium heparin adalah cairan berwarna kekuningan yang diperoleh setelah proses sentrifugasi darah. Darah tersebut diperoleh dengan teknik pengambilan darah melalui selang alat *dialyzer (Arterial Blood Line)* menggunakan spuit. Darah yang telah diambil lalu ditampung dalam *vacutainer tube* (PST dan *Vacutainer Lithium Heparin*) dengan antikoagulan lithium heparin dan kemudian segera dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Skala data variabel bebas berupa data nominal.

Serum adalah cairan berwarna kekuningan yang diperoleh ketika darah yang telah membeku sempurna (*clotting* sempurna) dilakukan proses sentrifugasi darah. Darah tersebut diperoleh dengan teknik pengambilan darah melalui selang alat *dialyzer (Arterial Blood Line)* menggunakan spuit. Darah yang telah diambil lalu ditampung dalam *vacutainer plain* dan dibiarkan membeku sempurna (*clotting* sempurna) lalu kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Skala data variabel bebas berupa data nominal.

2. Variabel Terikat

Kadar klorida merupakan hasil pengukuran jumlah millimol klorida dalam 1.000 ml darah dari sampel serum atau plasma heparin yang diukur dengan alat *Electrolyte Analyzer Ilyte* dengan metode *Ion Selective Electrode* (ISE). Satuan yang digunakan adalah mmol/L. Skala data berupa data rasio.

3. Variabel Pengganggu

a. Sampel Hemolisis

Hemolisis dapat terjadi secara *in vivo* atau *ex vivo*. Pada hemolisis *in vivo* terjadi karena hasil dari proses suatu penyakit menyebabkan kerusakan eritrosit intravaskular. Hemolisis dapat juga terjadi karena *venipuncture* yang sulit atau dari penanganan yang tidak tepat saat pengumpulan spesimen. Hemolisis menyebabkan tes-tes tertentu akan tidak akurat (Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2010). Menurut Kemenkes RI (2010), tingkat hemolisis yang dapat mengganggu pemeriksaan elektrolit adalah saat kadar hemoglobin dalam serum/plasma > 1 g/dL. Pada penelitian ini, variabel pengganggu tersebut dikendalikan dengan hanya memilih plasma yang jernih dan tidak hemolisis.

b. Sampel Ikterik

Serum Ikterik adalah serum yang berwarna kuning coklat akibat adanya hiperbilirubinemia (peningkatan kadar bilirubin dalam darah). Menurut Kemenkes RI (2010), tingkat ikterik yang dapat mengganggu pemeriksaan elektrolit adalah saat kadar bilirubin dalam serum/plasma > 60 mg/dL. Pada penelitian ini, variabel pengganggu tersebut dikendalikan dengan hanya memilih plasma yang jernih dan tidak ikterik.

c. Sampel Lipemik

Lipemik adalah adanya kelebihan lemak atau lipid dalam darah dan menyebabkan penampilan keruh dari serum/plasma yang dapat menyebabkan gangguan analisa terhadap tes tertentu, termasuk klorida (*Abaxis Veterinary Reference Laboratories* (AVRL), 2013). Menurut Kemenkes RI (2010), tingkat lipemik yang dapat mengganggu pemeriksaan elektrolit adalah saat kadar intralipid dalam serum/plasma > 2.000 mg/dL. Pada penelitian ini, variabel pengganggu tersebut dikendalikan dengan hanya memilih plasma yang jernih dan tidak lipemik.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Jenis data dalam penelitian ini adalah data primer, karena diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data ini merupakan data asli atau data baru yang bersifat *up to date*. Teknik yang

digunakan peneliti untuk pengumpulan data dilakukan dengan melakukan observasi dan pengukuran kadar klorida serum dan plasma *lithium heparin* pada *separator tube* dan *vacutainer* pada pasien *post* hemodialisa.

H. Instrumen dan Bahan

1. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat pengambilan darah yaitu *stopwatch*, *sputit 10cc*, *alcohol swab*, *handscoon latex*, *vacutainer tube (Plasma Separator Tube, Vacutainer Lithium Heparin dan Vacutainer Plain)*, sentrifuge, alat pemeriksaan klorida yaitu *Electrolyte Analyzer Ilyte*, cup sampel, *transferpette*, *yellow tip* dan *blue tip*.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Plasma lithium heparin dari *plasma separator tube* dan *vacutainer lithium heparin*.
- b. Serum dari *vacutainer plain*.
- c. Kit Reagen untuk alat *Electrolyte Analyzer Ilyte* untuk pemeriksaan elektrolit dengan komposisi reagen sebagai berikut :

1) *Standard A Solution* (800ml) dengan komposisi :

Na⁺ 140mmol/L

K⁺ 4.0mmol/L

Cl^- 125mmol/L

Bahan lain seperti *Buffer*, *Preservative*, dan *Wetting Agent*.

2) *Standard B Solution* (180ml) dengan komposisi :

Na^+ 35mmol/L

K^+ 16mmol/L

Cl^- 41mmol/L

Bahan lain seperti *Buffer*, *Preservative*, dan *Wetting Agent*.

3) *Flush Solution* (80ml) dengan komposisi berupa Ammonium bifluoride 0,1mol/L.

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

1. Untuk Instrumen

Uji validitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat keandalan dan kesahihan alat ukur yang digunakan. Sedangkan uji reliabilitas berguna untuk menetapkan apakah instrumen yang digunakan mencirikan tingkat konsistensi dalam pengukuran.

Dalam penelitian ini, untuk memastikan validitas dan reliabilitas instrument yang digunakan, peneliti melakukan pengecekan terhadap hasil kontrol harian instrumen yang digunakan yaitu *Electrolyte Analyzer Ilyte* dan hasil kalibrasi intrumen tersebut.

2. Untuk Pengukur/Enumerator

Pada penelitian ini, petugas pengambil sampel darah merupakan perawat hemodialisa di RSUD Sleman yang telah bekerja sesuai dengan bidang kompetensi dan keahliannya. Sementara pengukur/enumerator yang melakukan pengukuran (pemeriksaan kadar klorida) merupakan tenaga teknis ahli teknologi laboratorium medis yang juga telah bekerja sesuai bidang kompetensi dan keahliannya.

J. Prosedur Penelitian

1. Persiapan

- a. Membuat pengajuan kajian etik (*Ethical Clearance*) ke Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- b. Membuat surat ijin mengadakan penelitian di Unit Hemodialisa dan Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Sleman
- c. Membuat lembar *informed consent* untuk pasien.
- d. Melakukan penentuan subyek penelitian.
- e. Melakukan koordinasi dengan dokter dan perawat yang bertugas di Unit Hemodialisa.

2. Pelaksanaan

- a. Pasien diberikan *informed consent*.
- b. Pengambilan sampel darah pasien dilakukan oleh perawat yang bertugas di Unit Hemodialisa.

- c. Pengambilan sampel darah dilakukan segera sesudah siklus hemodialisa selesai.
 - d. Pengambilan sampel darah dilakukan pada *Arteri Blood Line* dengan menggunakan spuit 10 cc dan ditampung ke dalam *vacutainer tube Plasma Separator Tube* sebanyak 4,5 ml, *Vacutainer Lithium Heparin* sebanyak 4,0 ml dan sisanya dimasukkan ke dalam *Vacutainer Plain*.
 - e. Sampel darah dikirim ke unit laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan kadar kloridanya.
3. Pemeriksaan sampel
- a. Pembuatan plasma lithium heparin
Plasma diperoleh setelah proses sentrifugasi darah yang ada dalam *Plasma Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin*. Setelah pengambilan darah selesai, darah segera dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh plasma lithium heparin untuk dilakukan pemeriksaan kadar kloridanya.
 - b. Pembuatan serum
Serum diperoleh ketika darah dari *Vacutainer Plain* yang telah membeku (*clotting*) sempurna dilakukan proses sentrifugasi. Setelah pengambilan darah selesai, darah dibiarkan *clotting* sempurna lalu kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh serum untuk dilakukan pemeriksaan kadar kloridanya.

c. Pengukuran kadar klorida

1) Metode : *Ion Selective Electrode (ISE)*

2) Prinsip : ion-ion elektrolit masuk pada elektrode, timbul potensial listrik dengan konsentrasi ion elektrolit. Kemudian potensial listrik tersebut dikuatkan dan dikonversikan melalui prosesor menjadi nilai konsentrasi elektrolit.

3) Cara kerja pemeriksaan kadar klorida

a) Menghidupkan instrumen hingga *ready* digunakan

b) Melakukan *QC (Quality Control)*

c) Melakukan analisa sampel, sebagai berikut :

(1) Untuk sampel dari *Vacutainer lithium heparin* dan *Vacutainer plain* dilakukan *aliquot* (sampel dipindahkan dalam cup sampel) terlebih dahulu. Untuk sampel dari *Plasma Separator Tube* dapat langsung diperiksa tanpa melakukan *aliquot*.

(2) Tombol “*Yes*” pada alat ditekan, dan ditunggu sampai jarum penghisap keluar.

(3) Setelah terdengar bunyi “*beep*” yang pertama, tempatkan cup sampel sedemikian rupa hingga ujung jarum penghisap berada dalam sampel.

(4) Klik “*Yes*” pada alat maka secara otomatis sampel akan terhisap ke dalam instrumen. Setelah terdengar bunyi

kedua tarik cup sampel keluar dan bersihkan jarum penghisap dengan tissue.

- (5) Hasil pemeriksaan akan keluar kira-kira 1 menit setelah sampel dimasukkan dan dapat dibaca pada layar monitor.

K. Manajemen Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan sampel secara langsung. Data yang diperoleh berupa data primer yaitu data yang langsung memberikan informasi kepada pengumpul data (Sugiyono, 2012). Analisis data bertujuan membandingkan dua hal atau dua variabel untuk mengetahui selisihnya serta memperkirakan atau menentukan besarnya pengaruh secara kuantitatif dari perubahan suatu kejadian terhadap kejadian lain sebagai perubahan nilai variabel (Hasan, 2013).

Data yang terkumpul dalam penelitian ini berasal dari sampel yang dipilih secara random dan hasilnya diberlakukan untuk populasi, sehingga data yang diperoleh dianalisis secara statistik inferensial. Statistik inferensial atau statistik induktif atau statistik probabilitas dimana kesimpulan yang diberlakukan untuk populasi berdasarkan data sampel yang kebenarannya bersifat peluang, sehingga analisis statistik inferensial digunakan untuk menggeneralisasikan data sampel terhadap populasi (Sugiyono, 2012).

Data yang diperoleh berupa data hasil pemeriksaan kadar klorida yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik sebagai berikut :

1. Analisis deskriptif

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan jumlah, rerata variabel terikat, selisih dan persentase, standar deviasi (SD) serta nilai minimum dan maksimum tiap kelompok. Data disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dibuat grafik berbentuk batang.

2. Analisis statistik

Perbedaan kadar klorida pada serum dan plasma lithium heparin dengan penggunaan *separator tube* dan *vacutainer* dapat diketahui dengan melakukan uji statistik. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala data rasio. Uji statistik menggunakan komputer dengan program *SPSS 16.0 for Windows*. Data tersebut diuji sebaran datanya dengan Uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov*, apabila nilai $\text{asympt. sig} \geq 0.05$ maka sebaran data normal sehingga uji dilanjutkan dengan uji statistika parametrik menggunakan Uji *ANOVA One Way* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara kelompok variabel bebas.

Jika ternyata sebaran data tidak normal, maka untuk uji statistika lanjutannya digunakan uji statistika non parametrik menggunakan *K-Independent Samples (Kruskal-Wallis H)* pada *Nonparametric Test* dengan tingkat kepercayaan 95%.

L. Etika Penelitian

Etika penelitian dalam penelitian ini menyangkut bagaimana peneliti melakukan penelitian secara etik, tidak melakukan perubahan data atau informasi (manipulasi data atau informasi), tidak menyalahgunakan data atau informasi tersebut, dan menghargai hak-hak manusia sebagai subyek penelitian.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta sesuai dengan Surat Kelayakan Etik No. LB.01.01/KE-01/XXXIX/808/2018 tanggal 06 November 2018.