

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan observasi yaitu penelitian yang menggunakan prosedur kerja pemeriksaan atau suatu metode pemeriksaan yang berfungsi untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran terhadap objek melalui data sampel sebagaimana adanya tanpa melakukan perlakuan. Data yang didapat adalah Data Primer (Sugiyono, 2012).

Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan jenis kuantitatif. Artinya, mulai dari pengumpulan data, penafsiran terhadap data tersebut, serta penampilan dari hasilnya menggunakan angka (Suryabrata, 2003).

Desain penelitian ini adalah *Cross Sectional*, dimana variabel terikat dan variabel bebas diukur pada saat yang bersamaan (Sastroasmoro, 2010). Sampel urine dalam penelitian ini dikerjakan pemeriksaan sedimen eritrosit dengan metode Shih-Yung dan *flowcytometry* secara bersamaan.

Bilik hitung Shih-Yung $R1 \rightarrow X1 \rightarrow O1$

Automated Urine Analyzer UF-1000 $R2 \rightarrow X2 \rightarrow O2$

Keterangan:

R1: Urine

R2: Urine

X1: pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine metode Shih-Yung

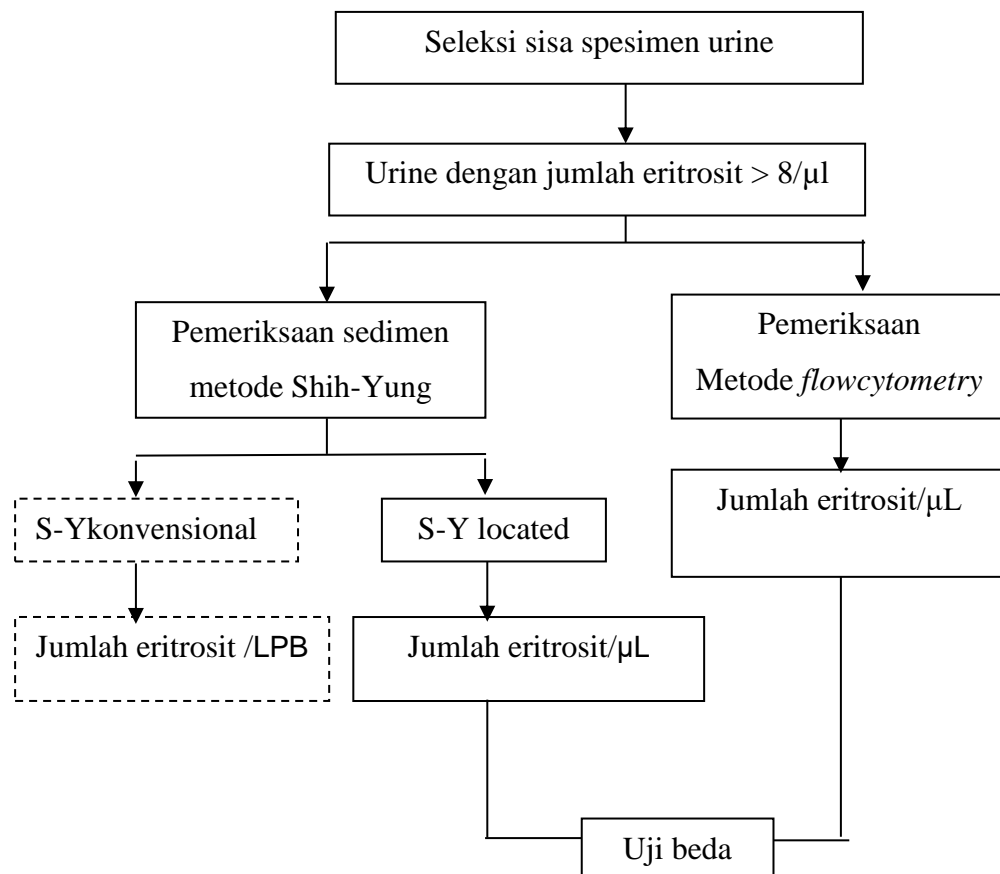
X2: pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine metode *flowcytometry*

O1: hasil pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine metode Shih-Yung

O2: hasil pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine metode *flowcytometry*

B. Alur Penelitian

Alur dari penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah pasien yang datang ke Instansi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih dengan permintaan pemeriksaan urinalisis.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah sisa spesimen urine pasien di RS Panti Rapih setelah diuji dengan menggunakan *Automated Urine Analyzer UF-1000i* sehingga memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini yaitu urine sewaktu pasien dengan jumlah eritrosit tinggi ($>8/\mu\text{L}$) pada pemeriksaan sedimen dan volume urine >15 mL, serta kriteria eksklusi yaitu urine sewaktu pasien dengan jumlah eritrosit sedikit ($\leq 8/\mu\text{L}$) atau tidak ditemukan eritrosit pada pemeriksaan sedimen dan volume urine ≤ 15 mL. Pada penelitian ini tidak dibedakan jenis kelamin karena sampel yang didapat dari RS Panti Rapih tidak diketahui identitasnya. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 30. Pengambilan jumlah sampel berdasarkan saran tentang ukuran sampel yang layak dalam penelitian yaitu antara 30-500 sampel (Sugiyono, 2012).

D. Waktu dan Tempat

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di sub bagian Instalasi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Maret tahun 2019.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode Shih-Yung dan *flowcytometry* jumlah eritrosit pada sedimen urin.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan eritrosit pada sedimen urine pasien RS Panti Rapih.

1. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah waktu penundaan, sedimen anorganik dan bakteri.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

a. Metode Shih-Yung

Metode Shih-Yung adalah metode yang digunakan dalam pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine menggunakan bilik hitung Shih-Yung.

b. Metode *Flowcytometry*

Metode *flowcytometry* adalah metode yang digunakan dalam pemeriksaan jumlah eritrosit pada sedimen urine menggunakan metode *flowcytometry*.

2. Variabel Terikat

Hasil pemeriksaan eritrosit pada sedimen urine adalah hasil pengukuran eritrosit pada sedimen urine yang diperiksa dengan menggunakan metode Shih-Yung dan metode *flowcytometry* dengan dengan satuan μL , skala variabel yang digunakan adalah rasio.

3. Variabel Pengganggu

a. Waktu Penundaan

Waktu penundaan dalam penelitian ini adalah lama waktu penundaan pemeriksaan disebabkan ketika sampel urine yang sesuai kriteria inklusi sudah tersedia, tetapi peneliti tidak selalu *standby* di Instansi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih, sehingga tidak bisa langsung diperiksa oleh peneliti.

b. Sedimen Anorganik

Sedimen anorganik adalah sedimen yang tidak berasal dari jaringan atau organ tubuh, seperti urat amorf dan kristal.

c. Bakteri

Bakteri yang ada di dalam urine merupakan indikasi infeksi saluran kencing maupun karena kontaminasi saampel urine. Adanya bakteri di dalam urine akan mengganggu pada pembacaan secara mikroskopis.

G. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan cara mungukur jumlah eritrosit dalam sedimen urine dengan menggunakan metode *flowcytometry* dan metode bilik hitung Shih-Yung. Sampel yang digunakan adalah urine sewaktu pasien di Instalasi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih.

H. Alat Ukur / Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Tahap Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dalam Sedimen Urine Metode Shih-Yung

a. Alat

Alat yang digunakan untuk melakukan pemeriksaan jumlah eritrosit dalam sedimen urine adalah wadah penampung urine beserta penutupnya, mikropipet, tip kuning, kamar hitung Shih-Yung, tabung centrifuge Shih-Yung, pipet, centrifuge dan label.

b. Bahan

Bahan yang digunakan untuk berupa urine sewaktu dan pewarna *Sternheimer-Malbin*.

2. Tahap Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dalam Sedimen Urine Metode *Flowcytometry*

a. Alat

Alat yang digunakan untuk melakukan pemeriksaan jumlah eritrosit dalam sedimen urine adalah wadah penampung urine beserta penutupnya, label dan *Urine Analyzer UF-1000 i*.

b. Bahan

Bahan yang digunakan untuk berupa urine sewaktu.

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

1. Uji Validitas dan Reliabilitas Bilik Hitung Shih-Yung

Uji reliabilitas bilik hitung Shih-Yung pada penelitian ini didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wirawan menggunakan uji presisi *within run* dimana pemeriksaan sedimen urine secara kuantitatif menggunakan urine patologis. Uji validitas berupa uji akurasi pemeriksaan sedimen urine secara kuantitatif menggunakan uji Kappa dilakukan pada 20 bahan urine segar. Uji Kappa merupakan ukuran yang menyatakan konsistensi pengukuran yang dilakukan dua orang penilai (*rater*) atau konsistensi antar dua metode pengukuran atau dapat juga

mengukur konsistensi antar dua alat pengukuran. Pada penelitian ini pembacaan sel menggunakan bilik hitung Shih-Yung dibaca duplo oleh dua orang yang berbeda sehingga hasil yang didapatkan adalah rerata antara dua orang pembaca tersebut (Wirawan *et al.*, 2004).

2. Uji Validitas dan Reliabilitas Alat *Flowcytometer*

Pemeriksaan urine menggunakan metode *flowcytometry* didahului dengan uji presisi dan akurasi analitik alat sehingga mutu hasil pemeriksaan dapat dipertanggungjawabkan. Uji presisi pemeriksaan meliputi uji presisi hari ke hari (*day to day*) dengan 2 level kontrol yaitu *high control level* dan *low control level*. Uji presisi hari ke hari yaitu pemeriksaan kontrol urine diulang sepuluh kali pada hari yang berbeda. Presisi diukur dengan rerata, simpangan baku (SB), dan koefisien variasi (KV). Semakin kecil nilai KV(%), semakin teliti metode tersebut dan sebaliknya. Akurasi adalah kedekatan hasil pemeriksaan dengan nilai yang sesungguhnya yaitu nilai kontrol atau rujukan atau rentang yang ditentukan. Akurasi dapat dinilai dari hasil pemeriksaan bahan kontrol dan dihitung sebagai nilai biasanya (d%) (Wijono *et al.*, 2004). Uji validitas dan reliabilitas alat *flowcytometry* sudah dilakukan di Laboratorium Klinik RS Panti Rapih setiap pagi sebelum melakukan pemeriksaan sehingga tidak perlu lagi dilakukan uji validitas dan reliabilitas.

J. Prosedur Penelitian

1. Persiapan

a. Pendahuluan

Pembuatan surat izin penelitian di Instalasi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih.

b. Teknik pengambilan sampel

Pada penelitian ini mengambil sampel urine sewaktu pada pasien di Instalasi Laboratorium Klinik RS Panti Rapih dan disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

2. Pelaksanaan

a. Tahap pembagian sampel urine

Spesimen urine patologis sebanyak >15 mL ditampung dalam wadah penampung dan ditutup rapat untuk diperiksa Instalasi Laboratorium Klinik Rumah Sakit Panti Rapih menggunakan metode bilik hitung Shih-Yung dan *flowcytometry*.

b. Tahap pemeriksaan jumlah eritrosit menggunakan mikroskop metode bilik hitung Shih-Yung

1) Suhu urine disesuaikan dengan suhu kamar, kemudian dihomogenkan dan dituang ke tabung *disposable centrifuge* sebanyak ± 12 mL.

2) Urine di-*centrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit.

3) Supernatan dibuang sehingga diperoleh volume sedimen $\pm 0,6$ ml.

- 4) Endapan ditambah pewarna sedimen *Sternheimer-Malbin* 1 tetes, kemudian diresuspensikan kembali.
 - 5) Sedimen diteteskan sebanyak 1 tetes dengan menggunakan pipet tetes ke dalam kamar hitung, lakukan penetesan secara hati-hati. Setiap kali akan melakukan tes dilakukan resuspensi sedimen urine.
 - 6) Sedimen diperiksa dengan mikroskop, kemudian unsur sedimen dihitung pada 4 bidang sedang dengan menggunakan perbesaran 10x dan perbesaran 40x.
 - 7) Cara pelaporan sedimen urine $n \times \frac{1}{19,05} \times \frac{1}{0,20} = 0,26 n$.
- c. Tahap pemeriksaan jumlah eritrosit menggunakan metode *flowcytometry*
- 1) Hidupkan alat *Urine Analyzer UF-1000i*.
 - 2) Memasukkan ID (identitas) sampel melalui komputer yang terhubung dengan alat.
 - 3) Suhu urine disesuaikan dengan suhu kamar, kemudian dihomogenkan dan dituang ke tabung yang berada pada rak tabung di dalam alat.
 - 4) Melakukan *running* dengan memilih option *sampler* untuk melakukan pemeriksaan secara otomatis, jumlah sampel yang dibutuhkan minimal 4 mL, sedangkan sampel yang digunakan untuk pemeriksaan *flowcytometry* adalah 0,8-1,2 mL..

- 5) Alat akan melakukan pemeriksaan secara otomatis dan data hasil pemeriksaan akan muncul secara berurutan pada komputer.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini tidak memiliki risiko yang mungkin terjadi pada responden atau pasien, karena sampel urine yang diambil adalah sampel urine sisa yang ada di Laboratorium Klinik RS Panti Rapih. Kemungkinan risiko yang dialami oleh peneliti adalah bahan urine yang mungkin bersifat infeksius dan dapat menyebabkan penularan penyakit ketika tidak ditangani dengan baik, maka peneliti perlu menggunakan alat pelindung diri (APD) yang lengkap sesuai Standar Operasional Prosedur (SOP). Peneliti telah mengajukan *ethical clearance* Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan nomor LB.01.01/KE-01/xlv/915/2018 pada tanggal 26 Desember 2018.