

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan pendekatan cross sectional. Dalam penelitian eksperimen yaitu mengubah waktu pembekuan untuk melihat perbedaan kadar kolesterol antara serum yang dibekukan selama 30 dan 45 menit. Pendekatan yang digunakan cross-sectional karena data dikumpulkan pada satu waktu untuk membandingkan kadar kolesterol total antara kedua variabel.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **1. Waktu Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan maret 2025

##### **2. Tempat Penelitian**

Proses pengambilan sampel serta analisis kadar kolesterol dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Setia Budi Surakarta.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi Penelitian**

Populasi adalah keseluruhan objek dengan karakteristik tertentu yang akan diteliti. Populasi dari penelitian ini adalah seluruh mahasiswa D4 Analisis Kesehatan semester 3 Universitas Setia Budi.

## **2. Sampel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan sebanyak 30 sampel yang diperoleh dari populasi yang telah ditentukan. Sampel darah yang digunakan ialah yang memenuhi syarat yaitu tidak lisis, tidak lipemik, dan tidak ikteric

### **D. Teknik Sampling**

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah random sampling, sampling dipilih secara acak dari populasi mahasiswa D4 yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian, sehingga setiap individu dalam populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih.

### **E. Variabel Penelitian**

#### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu pembekuan serum, terdiri dari dua waktu, yaitu 30 menit dan 45 menit.

#### **2. Variabel terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total, yang akan diukur untuk melihat pengaruh dari waktu pembekuan serum.

### **F. Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

- a. Jarum vacuntainer
- b. Holder

- c. Tabung vacuntainer merah
- d. Torniquet
- e. Kapas
- f. Alkohol swab
- g. Handscoon
- h. Label
- i. Rak tabung
- j. sentrifuge
- k. Fotometer
- l. Mikropipet 1000 ul
- m. Mikropipet 10 ul
- n. Tabung serologi
- o. Cup sampel
- p. Yellow tip
- q. Blue tip

## **2. Bahan**

- a. Serum
- b. Reagen kit kolesterol

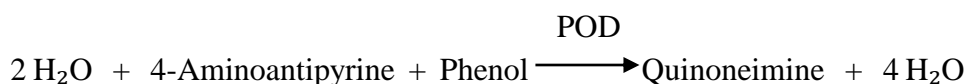
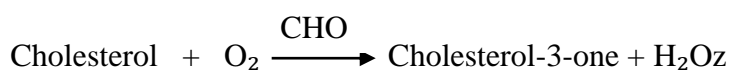
## **G. Prosedur Penelitian**

1. Melaksanakan informed consent pada responden
2. Melakukan prosedur pengambilan darah vena
  - a. vena yang digunakan untuk pengambilan darah pada orang dewasa adalah vena mediana cubiti yang terletak di daerah lipatan siku (fossa cubiti).
  - b. Tourniquet dipasang pada bagian atas lengan (proksimal) sekitar 6–7 cm dari lipatan siku untuk mempermudah visualisasi vena.
  - c. Vena ditentukan melalui perabaan (palpasi) pada area yang akan dilakukan penusukan.
  - d. Tempat penusukan beri antiseptik dengan alkohol swab, tunggu hingga kering.
  - e. Kulit di atas vena ditegangkan dengan menggunakan jari tangan kiri guna menjaga posisi vena tetap stabil.
  - f. Jarum disuntikkan ke dalam vena dengan sudut antara 45-60°, dan penyisipan dianggap berhasil jika indikator menunjukkan adanya darah yang masuk.
  - g. Tabung diambil dan ditusukan pada ujung lain dari jarum, maka darah akan masuk dengan sendirinya dan tourniquet dilepaskan.
  - h. Biarkan darah mengalir hingga berhenti secara alami ke dalam tabung vakum.
  - i. Setelah aliran darah berhenti, lepaskan tabung vakum dari penyangga (holder).

- j. Tempatkan kapas pada area bekas penusukan, kemudian tarik jarum secara perlahan ke belakang untuk menghindari trauma jaringan.
3. Pembuatan serum
    - a. Tabung yang telah berisi darah dibiarkan dalam kondisi suhu ruang selama 30 dan 45 menit untuk memungkinkan terjadinya proses pembekuan secara alami.
    - b. Setelah darah membeku, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Hasilnya, akan terbentuk lapisan bening berwarna kuning di bagian atas yang dikenal sebagai serum dan siap untuk dianalisis.
    - c. Sampel yang dapat digunakan untuk pemeriksaan adalah yang tidak mengalami hemolisis serta tidak menunjukkan karakteristik lipemik.
  4. Pemeriksaan kolesterol metode Enzimetik CHOD-PAP

Prinsip pemeriksaan :

Penentuan kolesterol setelah hidrolisis dan oksidasi enzimatik. Indikator kolorimetrik adalah quinoneimine yang dihasilkan dari 4-aminoantipyrine dan fenol oleh hidrogen peroksida di bawah aksi katalitik peroksidase (reaksi Trinder).



a. Cara pemeriksaan

Operasional Fotometer

- 1) Masukkan sampel dan reagen ke dalam tabung serologi menggunakan mikropipet

	Blanko	Sampel
Sampel	-	10ul
Aquades	10ul	-
Reagen	1000ul	1000ul

- 2) Campur, inkubasi 20 menit suhu 20°–25°C atau 10 menit pada suhu 37°C. baca absorbasinya terhadap blanko reagen dalam waktu 60 menit.
- 3) Menentukan program yang akan diperiksa dengan menekan tombol measure dan pilih pemeriksaan.
- 4) Memasukan aquades untuk memulai masuk ke satu pemeriksaan.
- 5) Memasukan blanko → standar → sampel
- 6) Membaca hasil.

Sumber: Kemenkes RI (2010)

## H. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini melalui pengukuran kadar kolesterol total pada serum yang telah dibekukan selama 30 menit dan 45 menit. Data dikumpulkan dengan menggunakan alat fotometer untuk mengukur kadar kolesterol total dalam sampel serum yang diperoleh dari partisipan yang telah dipilih.

## I. Teknik Analisa Data

Sebelum dilakukan analisis data perbedaan kadar kolesterol total dengan proses pembuatan serum yang dibekukan selama 30 dan 45 menit, Langkah awal dalam analisis data adalah melakukan uji normalitas. Uji ini bertujuan untuk menentukan jenis uji statistik yang sesuai, apakah menggunakan pendekatan parametrik atau non-parametrik. Dalam penelitian ini, uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk. Adapun ketentuan dari uji Shapiro-Wilk adalah sebagai berikut:

1. Jika  $p \leq 0,05$  maka data tidak terdistribusi normal.
2. Jika  $p > 0,05$  maka data terdistribusi normal.

Apabila data menunjukkan distribusi normal, maka analisis statistik dilakukan menggunakan uji paired sample t-test. Sebaliknya, jika distribusi data tidak normal, maka metode analisis yang digunakan adalah uji Wilcoxon Signed-Rank Test.

Hipotesis statistik yang digunakan adalah:

H0: Tidak ada perbedaan kadar kolesterol pada serum dengan proses pembuatan selama 30 menit dan 45 menit. H1: Terdapat perbedaan kadar kolesterol pada serum dengan proses pembuatan selama 30 menit dan 45 menit.

Apabila nilai:

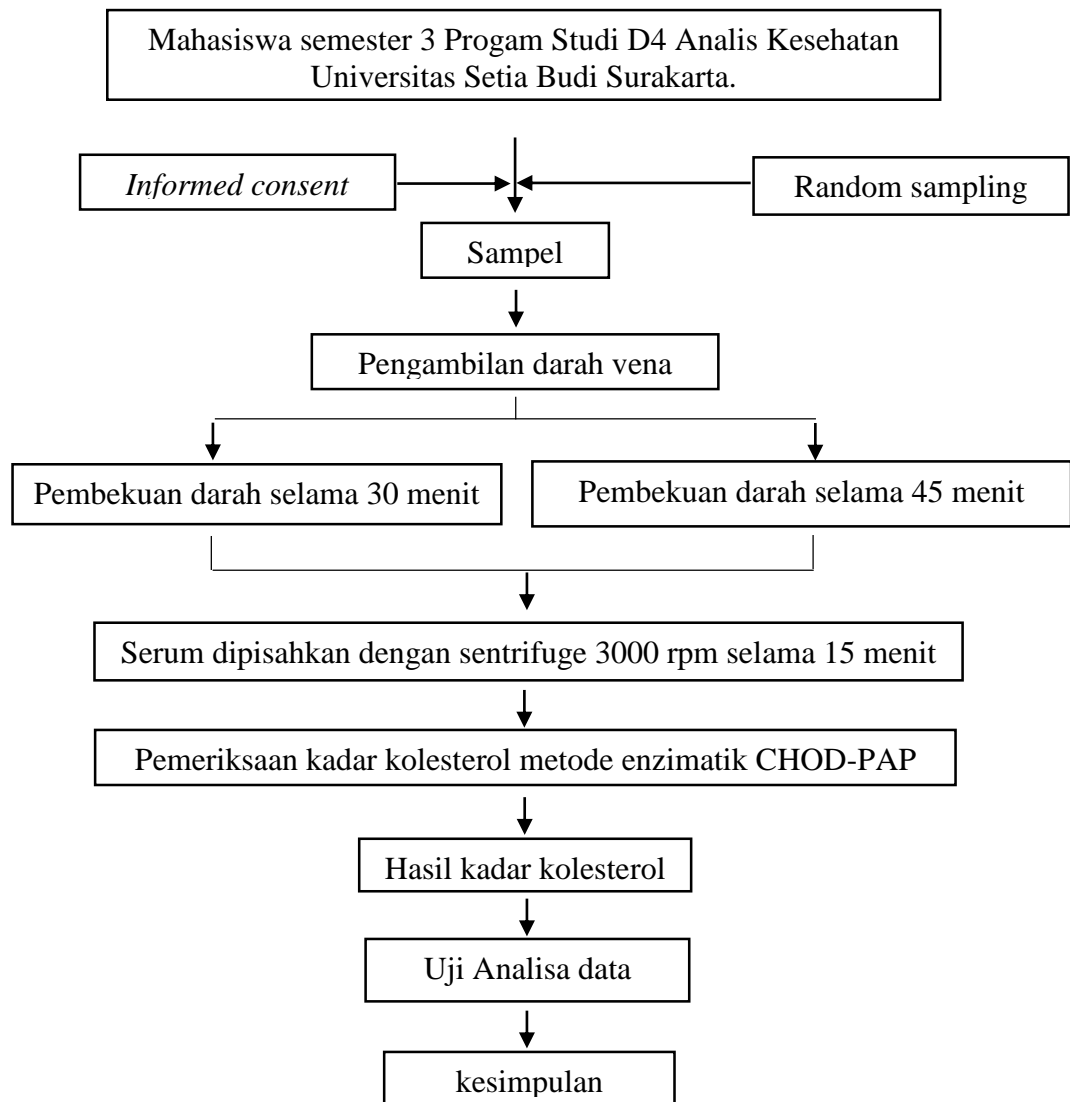
1.  $p \text{ value} \geq 0,05$  maka H0 diterima H1 ditolak. Kesimpulan: Tidak ada perbedaan kadar kolesterol pada serum dengan proses pembuatan selama 30 menit dan 45 menit.

2.  $p \text{ value} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Kesimpulan: Ada perbedaan kadar kolesterol pada serum dengan proses pembuatan selama 30 menit dan 45 menit.

## J. Definisi Operasional Variabel

**Tabel 5. Definisi Operasional Variabel**

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara dan Alat Ukur	Nilai Rujukan	Skala
1.	Variabel Independent: Waktu Pembekuan	Waktu pembekuan serum adalah lama waktu darah didiamkan pada suhu ruang sebelum dilakukan sentrifugasi untuk memperoleh serum.	Stopwatch	30 menit 45 menit	Rasio
2.	Variabel Dependen: Kadar Kolesterol Total	Kolesterol total merupakan akumulasi seluruh jenis kolesterol yang terdapat dalam darah, yang diukur melalui analisis serum menggunakan metode CHOD-PAP.	Fotometer (Metode CHOD-PAP)	< 200 mg/dL (normal) 200–239 mg/dL (borderline) >240 mg/dL (tinggi)	Rasio

**K. Alur Penelitian****Gambar 5. Alur Penelitian**

