

BAB 3

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* laboratorik dengan desain *pretest–posttest repeated measures*, di mana sampel yang sama diperiksa pada beberapa interval waktu penundaan analisis serum terhadap ketepatan hasil pemeriksaan kadar kreatinin.

Sampel kontrol : 0 jam-tanpa penundaan,

Sampel uji : 2 jam, 8 jam dan 24 jam.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

Penelitian ini akan dilakukan di UPTD Laboratorium Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur

2. Waktu

Penelitian ini direncanakan akan dilaksanakan pada bulan Februari- Mei 2026.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (independen) : Waktu penundaan serum.
2. Variabel Terikat (dependen) : Kadar kreatinin serum (mg/dL).
3. Variabel Kontrol: Suhu ruangan.

D. Populasi Sampel dan Teknik Sampling

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua orang sukarelawan dewasa yang bersedia memberikan sampel darah vena untuk pemeriksaan laboratorium.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini berjumlah 10 orang sukarelawan dewasa ditetapkan berdasarkan pedoman (Roscoe, 1975) yang menyatakan penelitian eksperimental dengan pengendalian variabel yang ketat dan dapat dilakukan secara valid dengan ukuran sampel kecil

Kriteria inklusi:

- a) Sukarelawan dewasa
- b) Bersedia menandatangani *informed consent*
- c) Dalam kondisi sehat, dibuktikan dengan:
 - Suhu tubuh normal
 - Tekanan darah normal

Kriteria eksklusi:

- a) Sampel hemolisis atau rusak.
- b) Responden yang membatalkan partisipasi sebelum pengambilan darah selesai.

Besar sampel ditetapkan sebanyak 10 orang sukarelawan sehat, masing-masing diambil 5 mL darah untuk kemudian diproses menjadi serum dan dianalisis pada interval waktu yang telah ditentukan.

Serum kontrol: sampel yang tidak ada penundaan (segera diperiksa – 0 jam)

Serum uji : 2 jam, 8 jam dan 24 jam.

3. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah purposive sampling, yaitu pemilihan sampel berdasarkan pertimbangan atau criteria tertentu yang sesuai dengan tujuan penelitian.

E. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur /Metode	Satuan Ukur
Waktu penundaan serum	Lama waktu antara pemisahan serum dari darah hingga dilakukan pemeriksaan kreatinin, yaitu 0 jam (segera diperiksa), 2 jam, 8 jam, dan 24 jam, dengan serum disimpan pada suhu ruang	Timer/stopwatch	Jam
Kadar kreatinin serum	Kadar kreatinin adalah pemeriksaan sederhana kadar kreatinin yang menggunakan sampel darah yang sudah di sentrifugasi. Pemeriksaan dilakukan menggunakan metode enzimatik dengan nilai normalnya: 0,6-1,3 mg /dL	Erba XL-200	mg/dL
Suhu ruang	Suhu ruang adalah suhu lingkungan laboratorium tempat penyimpanan serum setelah proses pemisahan melalui sentrifugasi, yang dipertahankan secara konstan pada kisaran 20–25 °C sesuai dengan standar pemeriksaan kimia klinik. Selama waktu penundaan pemeriksaan, serum disimpan pada suhu tersebut tanpa perlakuan pendinginan atau pemanasan tambahan, sehingga suhu ruang berfungsi sebagai variabel kontrol dalam penelitian ini.	Termometer laboratorium	°C
Ketepatan hasil pemeriksaan	Hasil pemeriksaan kreatinin adalah kadar kreatinin dalam serum yang diukur dengan metode Enzimatik	Analisis statistik	–

menggunakan Erba XL-200 dan dinyatakan dalam satuan mg/dL
Kesesuaian hasil pemeriksaan kreatinin serum setelah penundaan dengan hasil pemeriksaan segera (0 jam), ditinjau berdasarkan perbedaan nilai dan analisis statistik

F. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a) Menyusun rancangan penelitian sesuai tujuan dan variabel yang ditetapkan.
- b) Mengurus perizinan penelitian serta persetujuan responden (informed consent).
- c) Menyiapkan alat penelitian berupa jarum/spuit, alkohol swab, kapas kering, plester, tabung vakutainer tanpa antikoagulan, sentrifus, Erba XL-200, pipet mikroliter, cup serum, timer, dan termometer.
- d) Menyiapkan bahan penelitian berupa reagen kreatinin metode Enzimatik.
- e) Melakukan kontrol alat sebelum digunakan.
- f) Menyiapkan lembar pencatatan hasil dan kode sampel penelitian.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Tahap Pra-Analitik

- 1) Menjelaskan kepada responden tindakan yang akan dilakukan dan mengisi *informed concent*
- 2) Melakukan pengambilan darah vena sebanyak ± 3 mL dari vena cubiti menggunakan tabung vakutainer tanpa antikoagulan.

- 3) Memberi label pada setiap sampel sesuai kode responden.
- 4) Membiarkan darah membeku selama ± 30 menit pada suhu ruang.
- 5) Melakukan sentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum.
- 6) Memindahkan serum ke cup serum dan menutupnya dengan rapat.
- 7) Menyimpan serum pada suhu ruang ($20-30^{\circ}\text{C}$) dengan interval waktu penundaan pemeriksaan 0 jam (segera diperiksa), 2 jam, 8 jam, dan 24 jam.

b. Tahap Analitik

- 1) Melakukan pemeriksaan kadar kreatinin serum menggunakan metode Enzimatis sesuai prosedur kerja reagen.
- 2) Prosedur Kerja Reagen :
 - a) Persiapan alat
 - Nyalakan alat Erba XL-200
 - Lakukan warm up sesuai instruksi alat
 - Pastikan reagen kreatinin (R1 dan R2) tersedia dan tidak kadaluarsa
 - Lakukan kalibrasi (kalibrator kreatinin) dan kontrol kualitas bila diperlukan
 - b) Setting metode pada alat
 - Pilih menu *Creatinine – Enzymatic method*
 - Panjang gelombang: 505 –571 nm (sesuai kit)
 - Suhu inkubasi: 37°C

- Sampel/kalibrator : 5,0 μL
 - Reagen 1 : 80 μL
 - Reagen 2 : 20 μL
 - Tambahkan Reagen 2 : 19 siklus (286 detik)
 - Penyerapan : 24/34 (350 detik/464 detik)
 - Kalibrasi : linear
- c) Penempatan reagen
- Tempatkan R1 dan R2 pada posisi reagen di alat
 - Alat akan otomatis mengatur volume aspirasi reagen
- d) Input sampel
- Masukkan tabung serum pasien, kontrol, dan kalibrator
 - Scan barcode (jika tersedia) atau input manual identitas sampel
- e) Proses analisis otomatis
- Mengaspirasi R1 + sampel
 - Inkubasi awal pada 37°C
 - Menambahkan R2 secara otomatis
 - Melakukan reaksi enzimatik
 - Mengukur absorbansi: A1 (awal) dan A2 (akhir interval reaksi)
 - Menghitung ΔA secara otomatis
- f) Perhitungan hasil
- Alat menghitung kadar kreatinin berdasarkan: Perbandingan sampel dengan kalibrator
 - Hasil langsung keluar dalam satuan mg/dL

g) Validasi hasil

- Cek hasil kontrol (QC)
- Pastikan nilai kontrol berada dalam rentang yang ditentukan

3) Nilai Rujukan : Dewasa: Wanita : 0,6-1,3 mg /dL dan Pria : 0,7-1,3 mg /dL

3. Tahap Akhir

a. Tahap Pasca-Analitik

- 1) Mencatat dan mengumpulkan hasil pemeriksaan kadar kreatinin serum pada setiap interval waktu penundaan.
- 2) Mengolah dan menganalisis data hasil pemeriksaan kreatinin menggunakan program statistik (SPSS).
- 3) Menafsirkan hasil analisis statistik untuk menilai pengaruh penundaan sampel serum pada suhu ruang terhadap ketepatan hasil pemeriksaan kreatinin.
- 4) Menarik kesimpulan berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh.
- 5) Menyusun laporan hasil penelitian sebagai Karya Tulis Ilmiah.

G. Analisis Data

Dalam penelitian ilmiah laboratorium, evaluasi perbedaan hasil kreatinin antara kondisi pemeriksaan yang dilakukan segera dan kondisi pemeriksaan yang ditunda dianalisis menggunakan uji statistik. Data kadar kreatinin yang diperoleh pada setiap waktu penundaan dianalisis menggunakan program SPSS versi 27.0.

Sebelum dilakukan uji perbedaan, data diuji normalitasnya. Apabila data hasil kreatinin berdistribusi normal, maka perbandingan kadar kreatinin antara pemeriksaan segera dan setelah penundaan dianalisis menggunakan uji *paired t-test*. Apabila data tidak berdistribusi normal, digunakan uji *Wilcoxon Signed-Rank Test* sebagai alternatif. Hasil analisis statistik digunakan untuk mengetahui apakah perbedaan yang muncul akibat penundaan analisis bersifat signifikan secara statistik, sehingga mendukung interpretasi *quality control* (QC) laboratorium.

H. Jadwal Penelitian

Tabel 3.2 Jadwal Kegiatan Penelitian

[illegible]

I. Rincian Biaya

Tabel 3.3 Rincian Biaya

No	Alat dan Bahan	Jumlah	Harga (Rp)
1.	Jarum/Spuit 3 cc	15 buah	40.000
2.	Tabung vakutainer	15 buah	38.000
3.	Kapas kering	1 pak	20.000
4.	Alcohol swab	1 pak	20.000
5.	Sarung tangan	1 pak	35.000
6.	Biaya pemeriksaan Kreatinin serum	40 pemeriksaan	1.600.000
7.	Biaya Penelitian	2 hari	250.000
Total			2.003.000