

BAB III

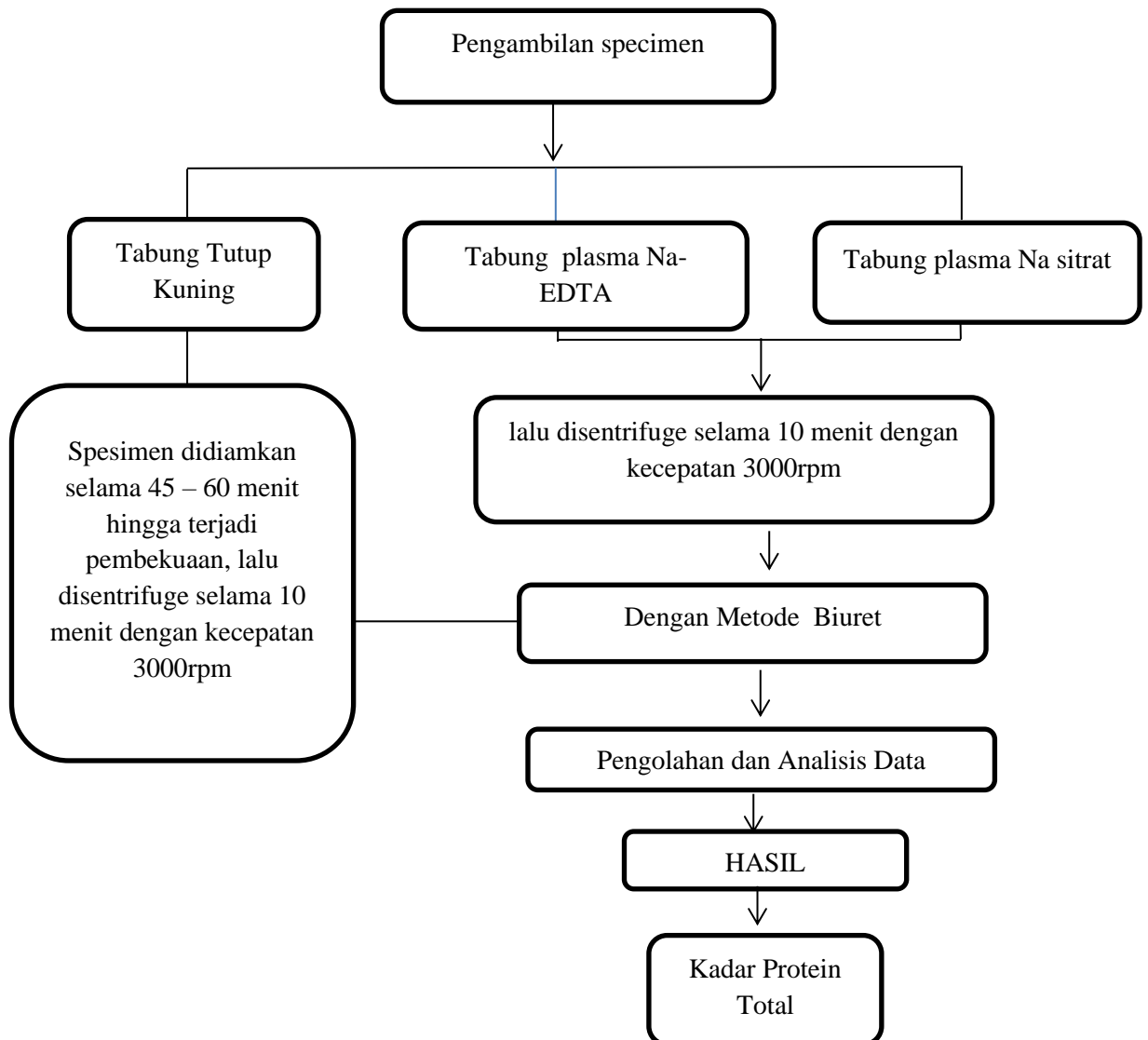
METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian analitik.

3.2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah bersifat Eksperimental Laboratrium yaitu dengan tujuan untuk melihat perbedaan kadar Protein Total dan Albumin pada sampel yang tidak diberi antikoagulan (serum), diberi antikoagulan EDTA (Plasma) dan diberi antikoagulan Natrium Sitrat (Plasma) yang kemudian dibandingkan setiap kadar yang didapatkan dari ke tiga variable. Berikut ini alur penelitian yang akan dibuat penulis.



Alur 1 Bagan Alur Penelitian

3.3. Populasi Dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien klinik diambil secara random sampling.

3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel diambil dari darah vena pasien klinik dengan menggunakan rumus Federer. Perhitungan besar dihitung dengan rumus Federer:

Dengan t adalah perlakuan yaitu tiga perlakuan (serum, plasma EDTA, plasma sitrat), maka akan dihitung r (pengulangan penelitian)

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

$$t=3$$

$$(3 - 1)(r - 1) \geq 15$$

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

$$2r - 2 \geq 15$$

$$2r = 17$$

r = 9 pengulangan (dibulatkan) dari 17/2

3.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.4.1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Klinik Tugu Cisarua Bogor

3.4.2. Waktu Penelitian

03 – 05 Juni 2024.

3.5. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.5.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spuit, fotometer, *centrifuge*, *clinipet* 1000 μ l dan 100 μ l, tabung EDTA, tabung Natrium Sitrat, tabung serologi, spidol, rak tabung, tip kuning atau biru, cup sampel.

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah darah vena, Plasma EDTA, Plasma Natrium Sitrat dan Reagen Biuret.

3.5.3. Metode

Metode pada penelitian kadar pemeriksaan Protein Total adalah Metode Biuret dengan prinsip ion kupri berikatan dengan ikatan peptida dalam protein menghasilkan kompleks berwarna ungu, dengan intensitas warna sebanding dengan konsentrasi protein dan dapat diukur dengan fotometer dengan panjang gelombang 546nm, intensitas warna yang terbentuk dan kadar protein total terikat pada sampel.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Pra Analitik

3.6.1.1. Persiapan Pasien

1. Pasien berusia 18 – 30 tahun
2. Pasien berjenis kelamin perempuan

1. Pengambilan Sampel Darah

1. Diposisikan pasien dalam keadaan duduk dengan lengan bersandar pada permukaan rata, pasien harus dalam kondisi nyaman.
2. Dipilih vena pasien dengan cara melihat, meraba, dan merasakan. Lalu pasangkan tourniquet diatas lekukan

fossa cubiti dengan jarak 3-4 jari, kencangkan secukupnya.

3. Dilakukan disinfeksi pada lokasi vena untuk pengambilan darah dengan alcohol swab 70% dengan cara melingkar dari dalam ke luar.
4. Pada bagian yang telah didisinfeksi, lakukan tusukan kearah 30°C , secara perlahan, sampai darah memasuki area jendela control.
5. Ditarik piston perlahan-lahan seiring masuknya darah kedalam vena spuit hingga volume yang ditetapkan.
6. Dikendurkan tourniquet, tarik jarum perlahan lahan, dan tekas tusukan dengan kapas kering.
7. Darah dimasukkan ke dalam tabung untuk serum yang diberi clot activator (tabung kuning) sebanyak 2 mL
8. Untuk darah yang akan dibuat menjadi plasma EDTA, darah dimasukkan ke dalam tabung yang sudah ada antikoagulan EDTA (1,8 mg EDTA/mL darah)
9. Untuk darah yang akan dibuat menjadi plasma natrium sitrat, darah dimasukkan ke dalam tabung yang sudah ada antikoagulan natrium sitrat (3,2% untuk 3 mL darah, atau 0,3 mL sitrat untuk 2,7 mL darah).
10. Diperiksa bekas tusukan, jika tidak ada kelainan pasangkan plester dengan segera.

11. Dibolak balikkan tabung searah angka pada posisi vertical selama beberapa kali.
12. Dipastikan identitas pasien sudah sesuai dengan tabung specimen.
13. Dirapihkan kembali.

3.6.2. Analitik

3.6.2.1. Pembuatan Serum

1. Darah Vena yang telah dimasukkan ke dalam tabung dengan gel,
didiamkan sampai terpisah (sekitar 15-30 menit), selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000rpm selama 15 menit
2. Pisahkan serum dari bekuan
3. Serum dipindahkan ke Aliquoting
4. Beri Label

3.6.2.2. Pembuatan Plasma

1. Darah Vena yang telah dimasukkan ke dalam tabung dengan antikoagulan EDTA dan yang dengan antikoagulan natrium sitrat, dapat langsung disentrifus pada kecepatan 3000rpm selama 15 menit
2. Pisahkan plasma dari bekuan
3. Serum dipindahkan ke Aliquoting
4. Beri Label

3.6.2.3. Prosedur Pemeriksaan

Pemeriksaan Protein total

1. Menyiapkan tabung reaksi
2. Memipet masing masing kedalam tabung

	BLANKO	STANDAR	SAMPEL
STANDAR	-	20 μ l	-
SPESIMEN	-	-	20 μ l
REAGEN	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

3. Mencampurkan dan dilakukan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Pengukuran absorbansi dari spesimen atau standar serta reagen blanko dalam 60 menit dengan panjang gelombang 546nm.

Isi Reagen Biuret:

Reagen	Komponen	Jumlah
R1	Natrium Hidroksida (NaOH)	100 mmol/L
	Kalium Natrium Tartrat	17 mmol/L
R2	Natrium Hidroksida	500 mmol/L
	Kalium Natrium Tartrat	80 mmol/L
	Kalium Iodida	75 mmol/L
	Tembaga Sulfat	30 mmol/L

3.6.2.4. Perhitungan

Perhitungan Protein Total dan Albumin

$$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ Blanco}} \times C = \text{konsentrasi sampel}$$

C : Konsentrasi standar protein total [g/dl]

ΔA Sample : Nilai Absorbansi Sample

ΔA Blanko : Nilai Absorbansi Standar

3.6.3. Pasca Analitik

Setelah dilakukahkan Pra – analitik dan analitik, dilanjutkan ke tahap akhir

Pasca analitik, yaitu:

1. Dicatat data yang didapatkan dari hasil pemeriksaan.
2. Dilakukan dokumentasi pada hasil penelitian.