

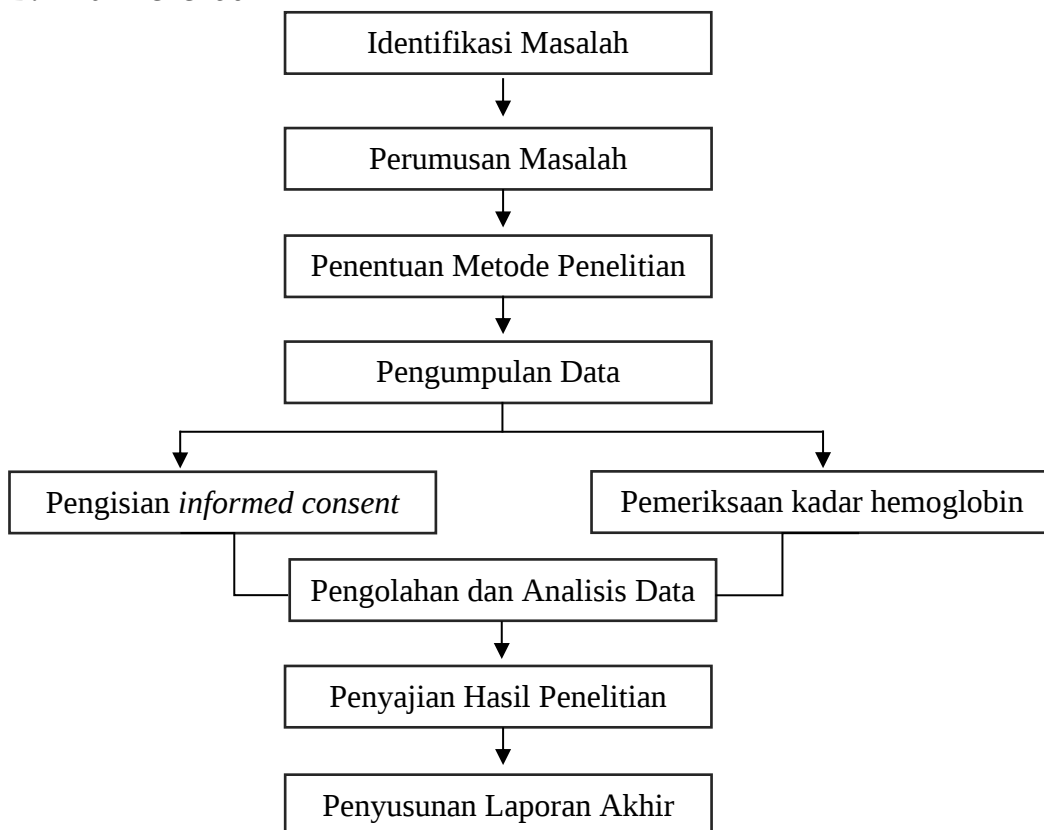
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain studi observasional analitik *cross sectional*. Penelitian eksperimental dengan desain studi observasional analitik *cross sectional* melibatkan pengumpulan data pada satu titik waktu tanpa adanya intervensi penelitian terhadap subjek. Tujuannya adalah untuk menganalisis hubungan antara variabel-variabel yang diamati pada waktu yang sama, memberikan gambaran hubungan di antara mereka dalam populasi yang diobservasi (Masturoh & Anggita, 2018).

B. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel dilakukan di Posko Komunitas Sepeda Onthel yang berlokasi di Jl. Raya Puputan No.210, Renon. Sedangkan, untuk pemeriksaan kadar hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin* dilakukan di Kampus Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang bertempat di Jl. Sanitasi No. 1 Sidakarya, Denpasar Selatan. Sedangkan, untuk pemeriksaan kadar hemoglobin dengan metode Kolorimetri *Non-Cyanide SLS* dilakukan di Klinik Niki Diagnostic Center.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2024.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi merujuk pada kumpulan obyek atau subyek yang memiliki karakteristik tertentu, yang menjadi wilayah generalisasi yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan dipahami (Sugiyono, 2022). Populasi dalam penelitian ini adalah anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar sebanyak 155 orang.

2. Sampel penelitian

Sampel adalah bagian dari karakteristik yang dimiliki oleh populasi dan harus *representative* atau mewakili populasi penelitian (Sugiyono, 2022).

a. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah kadar hemoglobin pada anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar.

b. Besar sampel

Besar sampel dapat ditentukan berdasarkan dari besaran tingkat kesalahan yang diinginkan oleh peneliti. Besar sampel pada suatu penelitian dihitung ditentukan oleh desain penelitian yang dipergunakan (Masturoh & Anggita, 2018). Besar sampel pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rumus Slovin, yaitu sebagai berikut:

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel

N = Jumlah populasi

e = Tingkat kesalahan dalam penelitian: 15% (0,15)

Perhitungan:

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

$$n = \frac{155}{1 + 155 (0,15)^2}$$

$$n = \frac{155}{1 + 155 (0,0225)}$$

$$n = \frac{155}{1 + 3,4875}$$

$$n = \frac{155}{4,4875} = 34,54$$

$$n = 34 \text{ sampel}$$

Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan untuk menentukan besar sampel, maka hasil yang didapatkan adalah 34 sampel.

c. Teknik pengambilan sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik *Purposive Sampling*. *Purposive sampling* merupakan teknik penentuan sampel dengan memperhatikan karakteristik tertentu yang dianggap memiliki hubungan dengan karakteristik populasi yang sudah ditentukan. Adapun kriteria-kriteria yang harus dipenuhi dalam pengambilan sampel ini, yaitu kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

1) Kriteria inklusi

Merupakan kriteria yang perlu dipenuhi oleh anggota populasi agar dapat diambil sebagai sampel (Masturoh & Anggita, 2018). Kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a) Laki-laki berusia 30-60 tahun yang merupakan anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar
- b) Bersedia menjadi responden dan mengisi *informed consent*
- c) Dapat berkomunikasi secara aktif

2) Kriteria eksklusi

Merupakan anggota populasi yang tidak memenuhi kriteria dan tidak dapat diambil sebagai sampel (Masturoh & Anggita, 2018). Kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu:

- a) Anggota Komunitas Sepeda Onthel yang dalam keadaan sakit
 - b) anggota Komunitas Sepeda Onthel yang tidak hadir dalam pengambilan sampel
- d. Alat dan bahan

1) Alat:

Hematology analyzer, *Spektrofotometer*, *Tourniquet*, *Tabung Vacutainer EDTA*, *Spuut 5 mL*, *Cool box*.

2) Bahan:

Alkohol swab, Kapas kering, Plester, Label, dan Sampel darah vena.

e. Prosedur kerja

1) Pra-analitik

- a) Peneliti memperkenalkan diri kepada responden.
- b) Peneliti menjelaskan prosedur yang akan dilakukan kepada responden dan meminta persetujuan dengan *informed consent*.
- c) Peneliti menggunakan APD (jas laboratorium, *handscoon*, masker dan penutup kepala).
- d) Peneliti melakukan proses verifikasi mengenai identitas responden bersamaan dengan melakukan verifikasi sesuai dengan isi formulir wawancara.
- e) Peneliti memastikan kenyamanan dan keamanan responden.
- f) Peneliti mempersiapkan alat yang diperlukan untuk pengambilan darah. Alat yang dipergunakan haruslah dikalibrasi terlebih dahulu. Berikut cara mengkalibrasi alat yang digunakan:

(1) *Hematology analyzer*

Prosedur kalibrasi yang sebenarnya dilakukan dalam dua tahap. Selalu mulai dengan RBC atau nilai HCT saat pembacaan kontrol menunjukkan bahwa parameter ini memerlukan kalibrasi. Tahap pertama melibatkan memasuki nilai spesimen kalibrasi ke dalam instrumen dan mengaktifkan mode kalibrasi. Tahap kedua terdiri dari menjalankan spesimen kalibrasi.

- (a) Dari lembar uji yang sesuai dengan kontrol normal sebelumnya Anda telah diseimbangkan pada suhu kamar, memperoleh nilai rata-rata untuk RBC ditampilkan dalam kolom untuk Cell Dyn 300/400/500 sistem.

- (b) Menggunakan keypad numerik, tekan “Kode Pilih”, kemudian “2”. Entah “ECA” atau nilai akan ditampilkan. Masukkan nilai RBC rata-rata yang diperoleh dari lembar uji kontrol. Catatan ini membutuhkan 3 digit. Setelah masuk, indikator pada panel depan berdekatan dengan huruf “RBC” serta “Cal / Disc” indikator otomatis akan mulai berkedip.
- (c) Siapkan dua pengenceran sel darah merah yang terpisah seperti yang Anda lakukan untuk sampel pasien (1: 62,500) menggunakan bahan kontrol normal. Pastikan untuk benar-benar mencampur sampel kontrol terlebih dahulu dan hati-hati campuran pengenceran karena mereka sedang dibuat. Tuangkan dua pengenceran yang terpisah menjadi satu cangkir dan tempat di bawah transduser.
- (d) Tekan “RBC / HCT” tombol. Instrumen akan menghitung sampel 3 kali dan jika semua 3 nilai berada dalam toleransi akan pulih dan menampilkan nilai uji kontrol yang masukan pada awal prosedur. (Proses yang sama digunakan untuk mengkalibrasi hematokrit, namun sebuah “hidup” sampel darah harus digunakan untuk bagian ini prosedur kalibrasi.
- (e) Mendapatkan sampel darah diambil dan benar diencerkan dalam EDTA dari pasien normal dan mengukur nilai hematokrit secara manual menggunakan centrifuge mikrohematokrit. Nilai antara 40% dan 45% dapat diterima dan akan menghasilkan hasil terbaik. Jangan gunakan tabung hematokrit heparinized.
- (f) Tekan “*Kode Select*” dan kemudian “4”. “ECA” atau nomor akan ditampilkan. Masukkan nilai hematokrit berputar untuk diperoleh sebelumnya sampel “hidup”. Jangan lupa untuk memasukkan 3 digit, bahkan jika salah satu dari mereka adalah nol.

- (g) Seperti dengan kalibrasi RBC, siapkan dua terpisah pengenceran RBC / HCT menggunakan sampel pasien. Tuangkan dua pengenceran yang terpisah menjadi satu cangkir dan tempat di bawah transduser. Tekan tombol RBC / HCT. Pastikan bahwa nilai hematokrit input telah pulih.
- (h) WBC dan Hb parameter dapat dikalibrasi secara bersamaan. Seperti dengan kalibrasi RBC, WBC mendapatkan sel-Dyn dan Hb nilai target tes dari lembar uji kontrol. Tekan “*Kode Select*” kemudian “1” untuk memasukkan nilai uji untuk menghitung WBC. Tekan “*Kode Select*”, kemudian “3” untuk memasuki nilai Hb.
- (i) Siapkan dua terpisah (1: 250) pengenceran kontrol menambahkan jumlah yang sesuai melisiskan reagen untuk setiap sampel dan tuangkan kedua sampel bersama-sama ke satu cangkir. Aduk rata. Tempatkan gelas di bawah transduser dan tekan tombol “WBC / Hb” tombol. Verifikasi bahwa nilai-nilai sebelumnya masukan untuk kedua WBC dan Hb pulih dan ditampilkan.

(2) Spektrofotometer

Ketepatan panjang gelombang lakukan kalibrasi setiap 6 bulan, contoh dengan cara pada arah jalannya sinar diberi kertas putih dan amati corak yang timbul pada panjang gelombang tertentu, ialah hijau kebiruan pada 500 nm, hijau terang pada 525 nm, kuning hijau pada 585 nm.

- g) Peneliti mengecek kembali tanggal kadaluarsa dan kualitas alat pengambilan darah.

2) Analitik

a) Pengambilan Darah Vena

Pemeriksaan kadar hemoglobin metode kolorimetri *Non-Cyanide* SLS dan metode *Cyanmethemoglobin* diawali dengan pengambilan darah vena. Pengambilan darah vena dilakukan dengan cara sebagai berikut (Nugraha, 2022) :

- (1) Pastikan responden telah ada diposisi nyaman dan peneliti memberi arahan untuk mengurangi rasa takut pada responden.
- (2) Pilih bagian yang akan dilakukan tusukan vena (*venipuncture*) dengan meraba vena. Responden diminta mengepalkan tangan untuk mempermudah menemukan lokasi area penusukan.
- (3) Pasang tourniquet dan pastikan tourniquet dipasang 3 sampai 4 inch dari lipatan siku dan lokasi pungsi vena yang ditentukan. Tourniquet tidak boleh terpasang lebih dari satu menit.
- (4) Area *venipuncture* didisinfeksi menggunakan alkohol swab dengan cara melingkar dari bagian dalam ke arah luar berlawanan jarum jam, biarkan alkohol mengering dengan sendirinya.
- (5) Jarum diposisikan pada sudut 15-30 derajat terhadap permukaan kulit dengan lubang jarum menghadap ke atas. Jarum ditusukkan dengan menggunakan jari telunjuk dan ibu jari tangan kanan. Sedangkan, tangan kiri memegang lengan responden untuk imobilisasi lengan dan vena.
- (6) Setelah jarum mengenai vena, tangan kiri menjaga spuit agar tidak bergeser dan tangan kanan menarik piston (*plunger*).
- (7) Tourniquet dilepaskan segera setelah darah mengalir masuk ke dalam spuit dan jangan biarkan tourniquet terpasang lebih dari satu menit.

- (8) Lanjutkan menghisap darah hingga terisi penuh dan secara bersamaan minta responden untuk membuka kepalan tangan secara perlahan.
- (9) Setelah volume darah di dalam spuit dirasa cukup untuk pemeriksaan, letakkan kapas steril pada area *venipuncture* tanpa menekannya. Kemudian lepaskan jarum secara perlahan dan segera tekan area *venipuncture* dengan menggunakan kapas steril selama kurang lebih satu menit.
- (10) Jika darah sudah berhenti mengalir, kapas steril dilepaskan dan luka ditutup dengan plester.
- (11) Pindahkan darah pada spuit ke dalam tabung vacutainer EDTA. Tabung diberi label dengan identitas responden meliputi nama lengkap, waktu, dan tangan pengambilan darah. Kemudian, letakkan di dalam *cool box* yang sudah berisi *ice packs* untuk dikirimkan ke laboratorium untuk diperiksa.
- (12) Buang spuit dan jarum bekas tusukan ke dalam tempat sampah medis.
- (13) Peneliti membuka APD yang dipakai dan disinfeksi tangan menggunakan gel antiseptik atau mencuci tangan menggunakan sabun antiseptik.
- (14) Sampel ditransportasikan ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan.
 - b) Pemeriksaan kadar hemoglobin metode Kolorimetri *Non-Cyanide* SLS (*hematology analyzer*)
 - (1) Memastikan alat dalam kondisi siap digunakan.
 - (2) Memasukkan nomor identitas sampel pada alat lalu tekan enter.
 - (3) Menghomogenkan darah EDTA yang akan diperiksa dengan baik.
 - (4) Membuka tutup tabung EDTA lalu di letakkan dibawah *aspiration probe*.
 - (5) Pastikan ujung probe menyentuh dasar tabung supaya tidak menghisap udara.
 - (6) Menekan *start switch* untuk memulai proses dan sampel akan dihisap.

- (7) Setelah mendengar bunyi beep dua kali tabung sampel diambil dengan menurunkan tabung sampel darah dari bawah *aspiration probe*.
- (8) Menunggu hasil analisis yang akan tampil pada layar dan secara otomatis tercetak pada kertas printer alat Sysmex XP-100.
- (9) Bila semua pemeriksaan sudah selesai, matikan alat dengan menekan tombol *shutdown* dengan menggunakan *cellclean*.

c) Pemeriksaan kadar hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin*

- (1) Masukkan 5 ml larutan drabkin ke dalam tabung reaksi.
- (2) Hisap spesimen darah vena (EDTA) dengan mikropipet 20 μ .
- (3) Hapuslah kelebihan darah yang menempel dengan kertas pembersih atau tissue
- (4) Masukkan spesimen darah dalam pipet ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan drabkin.
- (5) Pipet di bilas dengan larutan drabkin tersebut.
- (6) Campur larutan dengan cara mengoyang-goyangkan tabung secara perlahan - lahan dan inkubasi selama 3 menit.
- (7) Lalu baca pada alat fotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

3) Post analitik

Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan metode *Cyanmethemoglobin* dan Kolorimetri *Non-Cyanide* SLS yang telah didapatkan kemudian disajikan dalam bentuk tabel sesuai dengan karakteristik yang telah ditentukan. Hasil yang didapatkan juga diinterpretasikan dengan membandingkan pada nilai normal untuk mengetahui hasil dalam rentang rendah, normal, atau tinggi.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder.

a. Data primer

Data yang dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data primer dalam penelitian ini adalah data yang diperoleh dari hasil wawancara, seperti usia responden dan frekuensi responden bersepeda per hari. Data primer lainnya yang diperoleh adalah data kadar hemoglobin dengan metode *Cyanmethemoglobin* dan metode Kolorimetri *Non-Cyanide* SLS.

b. Data sekunder

Data yang didapat oleh peneliti berdasarkan sumber yang sudah ada. Data sekunder dalam penelitian ini adalah jurnal ilmiah, buku, website dan data anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan dengan cara wawancara dan pemeriksaan laboratorium. Wawancara dilakukan pada anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar yang tergolong anggota Komunitas Sepeda Onthel dan wawancara dilakukan secara terstruktur dengan telah menyiapkan pertanyaan yang akan ditanyakan kepada responden. Data yang didapatkan dari teknik pengumpulan data wawancara adalah usia responden dan frekuensi responden bersepeda per hari.

Sedangkan, untuk teknik pemeriksaan laboratorium pada penelitian ini digunakan untuk mendapatkan data kadar hemoglobin pada responden dengan metode *Cyanmethemoglobin* dan metode Kolorimetri *Non-Cyanide* SLS.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Formulir wawancara, yang digunakan sebagai pedoman melakukan wawancara kepada responden yang berisi pertanyaan-pertanyaan yang harus dijawab oleh responden.
- b. *Informed consent*, sebuah lembar persetujuan untuk responden sebagai bentuk dokumentasi setelah responden dijelaskan informasi penelitian
- c. Alat tulis, yang digunakan untuk mencatat hasil pemeriksaan kadar hemoglobin.
- d. Alat dokumentasi, yang digunakan untuk mendokumentasikan kegiatan saat melakukan penelitian.
- e. Alat dan bahan pemeriksaan kadar hemoglobin.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan metode *Cyanmethemoglobin* dan Kolorimetri *Non-Cyanide* SLS pada anggota Komunitas Sepeda Onthel se-Denpasar yang akan dicatat atau dikumpulkan, lalu diolah dan disajikan hasil dari kedua metode tersebut dalam bentuk tabel, diagram dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan memasukkan data yang telah diolah ke dalam tabel pada aplikasi statistik untuk dilakukan uji statistik. Selanjutnya dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui apakah data yang diolah terdistribusi normal atau tidak. Jika data telah terdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji hipotesis yang pada penelitian ini menggunakan uji *Independent T-Test*. Penarikan kesimpulan didasarkan atas nilai

Sig. Jika nilai Sig < 0,05 maka terdapat perbedaan antara kedua kelompok variabel yang diuji.

G. Etika penelitian

Etika penelitian merupakan pedoman yang diberlakukan dalam seluruh kegiatan penelitian yang dapat membantu peneliti untuk melihat secara kritis moralitas dari sisi responden penelitian (Masturoh & Anggita, 2018). Setiap penelitian kesehatan yang menjadikan manusia sebagai responden wajib didasarkan pada tiga prinsip etik sebagai berikut:

1. *Respect for person*

Prinsip ini menegaskan bahwa peneliti harus menghormati dan menghargai responden tentang hak-hak responden dalam perlindungan dari bahaya dan mendapat kejelasan yang benar (Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan, 2017).

2. *Beneficience and non-maleficence*

Dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan mengurangi risiko bagi responden. Oleh karenanya desain penelitian harus memperhatikan keselamatan dan kesehatan dari subjek peneliti. Sehingga, peneliti haruslah memperkirakan kemungkinan-kemungkinan yang akan terjadi dalam penelitian sehingga dapat mencegah risiko yang membahayakan bagi responden (Haryani & Setiyobroto, 2022).

3. *Justice*

Prinsip ini menekankan setiap orang berhak mendapatkan sesuatu sesuai dengan haknya dan pembagian yang seimbang.

Penelitian ini mengajukan pertujuan pada instansi terkait untuk mendapatkan persetujuan dan apabila telah disetujui pengambilan data menggunakan etika sebagai berikut:

1. *Informed consent* (lembar persetujuan)

Informed consent diberikan kepada responden sebelum dilakukannya penelitian. Responden diberikan penjelasan terlebih dahulu mengenai maksud dan tujuan penelitian ini dilakukan dan ditanyakan apakah bersedia untuk menjadi responden. Apabila responden bersedia, maka diminta untuk menandatangani lembar *informed consent*.

2. *Anonymity* (tanpa nama)

Peneliti tidak perlu mencantumkan nama responden pada lembar pengumpulan data. Hanya cukup menuliskan nomor responden untuk menjaga kerahasiaan identitas responden.

3. *Confidentiality* (kerahasiaan)

Peneliti haruslah menjamin kerahasiaan identitas ataupun informasi yang diperoleh dari responden (Haryani & Setiyobroto, 2022).