

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian deskriptif kuantitatif yaitu tujuannya untuk memberiksan gambaran tentang bilirubin total pada penderita hepatitis B di Rumah Sakit Umum Bahteramas Kota Kendari.

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

##### **1. Tempat pengambilan sampel**

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian ini telah dilakukan di Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

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

Pemeriksaan pada penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Bina Husada Kendari

##### **3. Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan pada tanggal 09 Mei- 20 Juni 2023.

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

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

Populasi dalam penelitian ini adalah orang yang terdiagnosa terkena penyakit hepatitis B yang ditentukan berdasarkan data rekam medis Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara pada bulan Mei-Juni 2023 yaitu terdapat sebanyak 30 orang.

##### **2. Sampel**

Berhubung jumlah populasi  $< 100$  (30 orang), maka besar sampel dalam penelitian ini yaitu sebanyak 30 dengan teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah total sampling.

#### **D. Prosedur Pengumpulan Data**

Data dalam penelitian ini di kumpulkan dari pengambilan data awal di rekam medis Rumah Sakit Umum Bahteramash Provinsi Sulawesi Tenggara, melakukan wawancara langsung, dan melakukan pemeriksaan bilirubin total pada penderita hepatitis B.

#### **E. Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *logbook*, dan *Informed Consent*.

#### **F. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum dari sampel darah vena penderita hepatitis B di Rumah Sakit Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara yang terpilih.

#### **G. Prosedur Pemeriksaan Laboratorium**

##### **1. Pra Analitik**

- a. Siapkan alat dan bahan
  - 1) Alat
    - a) Fotometer DIRUI DR-7000D
    - b) Gelas kimia
    - c) Mikropipet 100 µl dan 1000µl
    - d) Rak tabung
    - e) Sentrifus
    - f) *Stopwatch*
    - g) Tabung tutup kuning
    - h) Tabung reaksi
    - i) Tip ( kuning dan biru)
    - j) Tourniquet
  - 2) Bahan
    - 1) *Alcohol swab* 70%
    - 2) Kapas kering
    - 3) Plester
    - 4) Reagen bilirubin total (RN dan RD)

- 5) Sampel serum
  - 6) Spuit 3 cc
  - 7) Strip HBsAg
  - 8) Tisu
- 3) Prinsip Metode

Metode penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu metode Jendrasik Groff. Prinsipnya yaitu bilirubin bereaksi dengan DSA (*diazotized silfanilic acid*) membentuk senyawa azo berwarna merah. Penerapan warna senyawa ini dapat diukur langsung dari sampel bilirubin pada panjang gelombang 456 nm, yang konsentrasinya sebanding dengan konsentrasi bilirubin dalam sampel. Bilirubin glukoronida yang larut dalam air dapat bereaksi langsung dengan DSA, tetapi bilirubin dalam albumin yaitu bilirubin terkonjugasi yang hanya dapat bereaksi jika ada akselerator.

- b. Persiapan pasien
  - 1) Pasien di jelaskan mengenai penelitian yang akan dilakukan
  - 2) *Informed Consent* ditandatangani sebagai bentuk persetujuan
- c. Pesiapan sampel
  - 1) Pengambilan sampel (darah vena)
    - a) Alat dan bahan yang dibutuhkan, di siapkan terlebih dahulu
    - b) Pasien diminta untuk meluruskan tangan dan mengepalkan tangan lalu tourniquet dipasang ( $\pm 10$  cm di atas lipatan siku).
    - c) Dipilih vena *mediana cubity*, kemudian palpasi
    - d) Setelah vena dipalpasi, daerah yang akan ditusuk didesinfeksi dengan alkohol swab, lalu ditunggu hingga kering.
    - e) Lakukan pengambilan darah menggunakan jarum vacutainer dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan ditusuk dengan sudut 30 derajat dari permukaan kulit (sesuai kondisi vena pasien).

- f) Jarum ditusukkan ke vena *mediana cubity* dengan hati-hati kemudian tabung tutup kuning dipasang ke dalam holder vacutainer hingga darah terlihat mengalir ke dalam tabung
  - g) Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibutuhkan, tabung tutup kuning dilepaskan dari holder.
  - h) Kapas kering diletakkan di tempat penusukan (di atas jarum).
  - i) Tarik jarum secara perlahan dan hati-hati sembari menekan area penusukan dengan kapas kering, lalu area penusukan ditutup dengan plester.
  - j) Jarum vacutainer bekas pakai dilepas dari holder lalu dibuang pada tempat pembuangan khusus (bahan infeksius).
- 2) Prosedur pembuatan serum
- a) Darah dibiarkan membeku  $\pm 5$  menit.
  - b) Darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
  - c) Serum dipisahkan dan dimasukkan ke cup sampel
- d. Persiapan Reagen Kerja
- 1) Alat dan bahan yang dibutuhkan, disiapkan terlebih dahulu
  - 2) Reagen bilirubin total disiapkan dan dikondisikan pada suhu ruang.
  - 3) Reagen kerja bilirubin total dibuat dengan mencampurkan reagen bilirubin total RN dan RD dalam beker gelas dengan perbandingan 1:4, dimana reagen bilirubin RN dipipet sebanyak 7000  $\mu\text{l}$  dan reagen bilirubin RD dipipet sebanyak 24000  $\mu\text{l}$
  - 4) Homogenisasi dilakukan dengan mencampurkan larutan selama  $\pm 5$  menit
  - 5) Reagen kerja siap untuk digunakan.

## 2. Analitik

- a) Prosedur Pemeriksaan HBsAg
  - 1) Alat dan bahan yang dibutuhkan, disiapkan terlebih dahulu
  - 2) Identitas pasien ditulis pada logbook
  - 3) Bungkus strip HBsAg dibuka dan keluarkan strip HBsAg.

- 4) Strip test dicelupkan kedalam serum, biarkan 10-15 detik dalam serum (batas serum dicelupkan jangan sampai pada MAX LINE)
  - 5) Setelah dicelupkan, letakkan strip di atas bungkus strip HBsAg
  - 6) Jalankan stopwatch dan biarkan selama 10-15 menit hingga muncul garis merah pada strip tes HBsAg, kemudian baca hasil.
- b) Prosedur Pemeriksaan Bilirubin Total
- 1) Alat dan bahan yang dibutuhkan, disiapkan terlebih dahulu
  - 2) Fotometer disiapkan dengan absorbansi 0 menggunakan aquadest.
  - 3) Reagen kerja bilirubin total dan sampel disiapkan dan dikondisikan pada suhu ruang.
  - 4) Tabung serologi diberi label blanko dan sampel
  - 5) Reagen kerja dan serum masing-masing dipipet ke dalam tabung dengan prosedur seperti tabel 2 berikut.

**Tabel 3. Prosedur Pemeriksaan Bilirubin**

	Blanko	Sampel
Reagen Kerja	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
Serum	-	100 $\mu$ L

(Sumber: *Kit Insert Bilirubin MR Glory Diagnostics*)

- 6) Larutan sampel dihomogenisasi dan diinkubasi selama 2 menit pada suhu ruang.
- 7) Absorbansi larutan dibaca dengan fotometer pada panjang gelombang 540 nm.
- 8) Sampel diperiksa pada alat fotometer, lalu hasil dicatat pada logbook.

### 3. Pasca analitik

- a. Normal : 0,1-1,2 mg/dl
- b. Tinggi : > 1,2 mg/dl

## H. Jenis Data

### 1. Data Primer

Data primer dalam penelitian ini berupa identitas pasien yang meliputi nama, tanggal lahir, jenis kelamin dan hasil pemeriksaan bilirubin total di Laboratorium Kimia Klinik Polteknik Bina Husada Kendari.

## **2. Data Sekunder**

Data sekunder dalam penelitian ini adalah berupa data dari rekam medis Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

### **I. Pengolahan Data**

Data dalam penelitian ini diolah dengan mengelompokkan berdasarkan kode sampel, jenis kelamin, umur dan nilai yang diinterpretasikan berdasarkan nilai rujukan dan di buat dalam bentuk tabel.

### **J. Analisa Data**

Analisa data dalam penelitian ini yaitu analisa deskriptif yakni untuk mendeskripsikan gambaran hasil pemeriksaan bilirubin total pada pasien Hepatitis B.

### **K. Penyajian Data**

Data dalam penelitian ini akan disajikan dalam bentuk tabulasi dan narasi.

### **L. Etika Penelitian**

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin dari badan riset dan inovasi daerah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 070/1971/V/2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapatkan pernyataan layak etik dari komite etik penelitian Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 38/KEP/RSU/V/2023 (terlampir). Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi antara lain:

#### **1. Tanpa Nama (*Anonimity*)**

Hal ini dilakukan dengan cara memberiksan responden pada lembar alat ukur hanya menuliskan kode pada lembar pengumpulan data.

#### **2. Lembar Persetujuan (*Informed Consent*)**

Yaitu *Informed consent* ini diberikan kepada pasien yang diteliti. Apabila subjek menolak, maka peneliti tidak memaksa dan tetap menghormati hak subjek. *Informed consent* diberikan kepada responden sebagai tanda persetujuan mereka untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.

### 3. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

Yaitu menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah-masalah lainnya, hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil penelitian.