

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui gambaran titer *C- Reactive Protein* (CRP) pada pasien hepatitis B.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Pengambilan sampel

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah di RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

2. Tempat Penelitian

Tempat penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari.

3. Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – Juni tahun 2023

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang sudah terdiagnosa penyakit hepatitis B yang didapatkan dari data rekam medis dan hasil pemeriksaan HBsAg di RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara pada bulan Mei - Juni tahun 2023 terdapat 30 orang.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini diperoleh dengan menggunakan teknik Total Sampling yaitu proses pengambilan seluruh responden yang akan dijadikan sampel berdasarkan populasi.

D. Prosedur Pengumpulan Data

1. Data Primer

Prosedur pengumpulan data dalam penelitian ini diperoleh dari hasil wawancara langsung dan hasil pemeriksaan *C-Reactive Protein* (CRP) pada serum pasien hepatitis B di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes Kendari.

2. Data Sekunder

Prosedur pengumpulan data dalam penelitian ini diperoleh dari data rekam medis RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

E. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah lembar persetujuan subjek (*informed consent*), dan *log book*

F. Prosedur Pemeriksaan

1. Pra Analitik

a. Metode :

1) Pemeriksaan HBsAg

Immunoassay kromatografi

2) Pemeriksaan *C-Reactive Protein* (CRP)

Direct latex agglutination assay secara semi kuantitatif

b. Prinsip Kerja :

1) Prinsip kerja *C-Reactive Protein* (CRP)

Prinsip antibodi anti-CRP pada reagen berikatan pada antigen CRP pada serum manusia dan membentuk aglutinasi berupa butiran halus yang dapat dilihat secara makroskopik yang terlihat dalam waktu 2 menit.

2) Prinsip Kerja HBsAg :

Pemeriksaan ini menggunakan metode *immunoassay kromatografi* aliran lateral berdasarkan prinsip teknik sandwich antibodi ganda. ampuran bermigrasi ke atas pada membran secara kromatografi melalui aksi kapiler untuk bereaksi dengan anti HBs pada membran dan menghasilkan garis berwarna.

Adanya garis berwarna ini pada daerah pengujian menunjukkan hasil positif, sedangkan jika tidak ada garis berwarna menunjukkan hasil negatif.

c. Persiapan Alat Dan Bahan :

1) Alat

- a) *Centrifuge*
- b) *Cool box*
- g) Tabung serologi ukuran 12x75 mm
- h) Tabung vacutainer
- i) Tali pembendung (turniket)
- j) Yellow tip dan blue tip
- c) Mikropipet 50 µl
- d) Rak tabung serologi
- e) Stik pengaduk
- f) *Stopwatch* atau *timer*

2) Bahan

- a) Hadscoon
- b) *Ice gel*
- c) Jarum vacutainer
- d) Kapas *alcohol* 70%
- e) Kapas kering
- f) Kit *C-Reactive Protein* (CRP) merk glory 100 test. Isi kemasan dari kit, yaitu 2 vial reagen *C-Reactive Protein* (CRP) lateks, 1x1 ml kontrol positif, 1x1 mL control negatif, 3 kartu tes, dan 2x50 pengaduk sekali pakai.
- g) Nacl 0,9 %
- h) PCR Tube 1.5 ml
- i) Plester
- j) Sampel darah (serum)
- k) Stik pengaduk
- l) Strip HBsAg

m) Tisu

d. Persiapan Pasien :

- 1) Pasien dijelaskan terkait tujuan penelitian dan tindakan yang akan dilakukan.
- 2) Pasien diminta kesediaannya untuk menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*).

e. Prosedur Pengambilan Sampel Darah Vena :

- 1) Alat dan bahan yang akan digunakan, disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Izin kepada pasien dan menjelaskan tindakan yang dilakukan.
- 3) Pasien diarahkan untuk meluruskan lengan dan mengepalkan tangan, lalu tourniquet dipasang (\pm 3cm diatas lipatan siku) dan dilakukan palpasi.
- 4) Setelah vena dipalpasi, area suntikkan desineksi menggunakan kapas alkohol selama 30 detik dan biarkan sampai kering.
- 5) Pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan jarum *vacutainer* dengan posisi lubang mengarah keatas dan tusuk dengan sudut 30° dari permukaan kulit (sesuaikan dengan kondisi vena pasien).
- 6) Jarum ditusuk ke vena dengan hati-hati, lalu pasang tabung tutup kuning kedalam holder *vacutainer* hingga darah terlihat mengalir kedalam tabung, lalu lepaskan tourniquet dan darah akan terus mengalir kedalam tabung.
- 7) Ketika tabung sudah terisi dengan darah sesuai volume yang diperlukan, lepas tabung dari holder.
- 8) Kapas kering diletakkan ditempat yang telah dilakukan penusukan (diatas jarum).
- 9) Jarum ditarik dengan perlahan-lahan dan hati-hati sembari menutup bekas tusukan dengan kapas kering dan bersih, lalu tutup area penusukan dengan plaster.

10) Jarum *vacutainer* bekas pakai dilepas dari holder lalu dibuang pada tempat pembuangan khusus (bahan infeksius).

f. Pembuatan Serum :

- 1) Darah dimasukkan ke dalam sentrifus untuk dilakukan pemusingan.
- 2) Diatur posisi tabung dalam sentrifus dengan posisi yang seimbang.
- 3) Pemusingan dilakukan pemusingan dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit.
- 4) Tabung dikeluarkan dari sentrifus.
- 5) Serum yang diperoleh, dipisahkan menggunakan PCR Tube 1.5 ml diisi sesuai yang dibutuhkan.
- 6) Serum yang telah dipisahkan pada microtube kemudian disimpan di freezer.

2. Analitik

a. Prosedur Pemeriksaan HBsAg

- 1) Alat dan bahan yang akan digunakan, disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Identitas pasien ditulis pada logbook.
- 3) Bungkus strip HBsAg dibuka dan keluarkan strip HBsAg.
- 4) Strip HBsAg dicelupkan kedalam serum sampai pada bagian tertentu dari strip.
- 5) Setelah strip HBsAg dicelupkan, simpan 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 hasilnya.
- 7) Hasil positif jika muncul 2 garis merah pada strip tes HBsAg dan hasil negatif jika muncul 1 garis merah pada strip tes HBsAg.

b. Prosedur pemeriksaan titer C-reactive protein (CRP).

Pada pemeriksaan ini, menggunakan Glory CRP KIT metode *direct latex agglutination assay* secara semi kuantitatif.

- 1) Alat dan bahan yang akan digunakan, disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Untuk setiap spesimen yang akan diuji tempatkan dengan pipet otomatis 50 μ L, Nacl 0,9% ke dalam masing-masing lingkaran kartu. Jangan menyebarkan pengencer.
- 3) Untuk lingkaran satu, tambahkan 50 μ L spesimen ke Nacl 0,9% dan menggunakan ujung yang sama, campurkan Nacl 0,9% dengan sampel dengan aspirasi berulang sebanyak 50 μ L larutan dipindahkan ke lingkaran kedua.
- 4) Lanjutkan dengan pengenceran pada lingkaran 2 dengan cara yang sama hingga lingkaran keenam. Sebanyak 50 μ L larutan di lingkaran 6 dibuang. Pengenceran sampel akhir adalah: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64.
- 5) Uji setiap pengenceran dengan cara Tambahkan 1 tetes Reagen CRP- Lateks ke setiap lingkaran di sebelah sampel yang akan diuji.
- 6) Campurkan isi tiap bulatan dengan pengaduk sekali pakai sambil diratakan ke seluruh area yang dilingkupi ring. Gunakan pengaduk terpisah untuk setiap campuran.
- 7) Putar strip test CRP secara perlahan selama 2 menit
- 8) Amati segera di bawah sumber cahaya yang sesuai untuk setiap tingkat aglutinasi.

3. Pasca Analitik

a. Pemeriksaan HBsAg

Pada pemeriksaan HBsAg diperoleh hasil sebagai berikut :

1) *Positif* (+)

Terbentuk 2 garis berwarna merah jambu pada daerah kontrol (C) dan di test (T)

2) *Negatif (-)*

Terbentuk 1 garis berwarna merah jambu pada control (C), tetapi daerah test (T) tidak terdapat garis merah jambu.

3) *Invalid*

Tidak terbentuk garis merah jambu pada daerah control (C) dan test (T), atau hanya terdapat garis merah jambu pada daerah test (T), tetapi daerah Kontrol (C) tidak terdapat garis merah.

b. Pemeriksaan *C-Reactive Protein (CRP)*

Perkiraan titer *C-Reactive Protein (CRP)* yang terdapat dalam sampel dapat di peroleh dengan titer pengenceran positif terakhir dengan unit minimum yang dapat dideteksi (sensitivitas analitik). Dengan nilai rujukan :

1) *Positif (+)* : Terbentuk Aglutinasi

Jika terbentuk aglutinasi di titer terakhir , maka *titer C-Reactive Protein (CRP)* perkiraan dalam sampel pasien sebagai berikut:
Titer CRP 1:2, 1:4, 1:8,1:16,1:32,1:64

2) *Negatif (-)* : Tidak terbentuk aglutinasi

G. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer dalam penelitian ini berupa identitas pasien dan hasil pemeriksaan titer *C-Reactive Protein (CRP)* yang dilakukan secara langsung

2. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah data rekam medis pasien yang terdiagnosa hepatitis B berdasarkan hasil positif HBsAg.

H. Pengolahan Data

Data yang dikumpulkan akan diolah dengan langkah – langkah sebagai berikut :

1. *Editing* (Mengedit), yaitu pengoreksian dan pengecekan data yang telah dikumpulkan

2. *Coding* (Pengkodean), yaitu memberikan kode disetiap data yang dikumpul pada instrument penelitian, untuk memudahkan peneliti dalam menganalisis dan menafsirkan data
3. *Tabulating* (Tabulasi), yaitu data yang sudah diperoleh dimasukkan dalam bentuk tabel agar mudah di pahami.

I. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini yaitu analisa deskriptif untuk mendeskripsikan gambaran titer *C-Reactive Protein* (CRP) pada pasien hepatitis B.

J. Penyajian Data

Pengajian data dalam penelitian ini yaitu disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan untuk memberikan gambaran tentang hasil penelitian titer *C-Reactive Protein* (CRP) pada pasien hepatitis B.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin penelitian dari badan riset dan inovasi daerah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 070/1947/5/2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapatkan pertanyaan layak etik dari komite etik penelitian RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 34/KEP/RSU/V/2023 (terlampir). Dalam penelitian ini menekankan masalah etik yang meliputi antara lain :

1. Lembar Persetujuan (*Informed consent*)

Informed consent adalah bentuk persetujuan antara peneliti dengan responden penelitian dengan memberikan lembar persetujuan. *Informed consent* tersebut diberikan sebelum penelitian dilakukan dengan memberikan lembar persetujuan menjadi responden. Tujuan *informed consent* adalah agar subjek mengerti maksud dan tujuan penelitian, mengetahui dampaknya. Jika subjek bersedia, maka responden tersebut harus menanda tangani lembar persetujuan. Jika responden tidak bersedia, maka peneliti harus menghormati hak pasien.

2. Tanpa Nama (*Anonymity*)

Untuk menjaga kerahasiaan, peneliti tidak akan mencantumkan nama responden pada sampel serum, tetapi pada sampel serum tersebut diberikan kode subyek.

3. Kerahasiaan (*Confidentially*)

Kerahasiaan dilakukan dengan cara tidak memberikan nama responden pada lembar alat ukur, hanya menuliskan kode pada lembar pengumpulan data, yaitu menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah masalah lainnya.