

## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan eksperimen semu (Quasi Eksperimen). Desain Penelitian yang digunakan adalah Rancangan *Posttest* dengan kelompok kontrol (*Posttest Only Control Group Design*) yaitu desain penelitian eksperimen yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Soekidjo, 2014). Variabel penelitian ini yaitu variabel bebas: sputum dan sputum dengan penambahan NaOH, variabel terikat: hasil pemeriksaan mikroskopis BTA.

	Perlakuan	<i>Posttest</i>
Kelompok Eksperimen	X	02
Kelompok Kontrol	-	02

Keterangan:

X = Perlakuan atau eksperimen

02 = Pengukuran kedua (*posttest*)

(Soekidjo, 2014)

### B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Tempat pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Sukaraja dan Panjang kota Bandar Lampung. Pemeriksaan sampel akan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni-September 2022.

### C. Populasi dan Sampel

#### 1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah pasien Tuberkulosis paru yang ada di Puskesmas Rawat Inap Sukaraja dan Puskesmas Rawat Inap Panjang.

#### 2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah sputum yang diambil dari total populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Sputum pasien yang baru terkonfirmasi positif BTA 1+ dan scanty
- 2) Sputum dengan volume 3,5 ml
- 3) Pasien baru menjalani pengobatan TB tahap intensif yang masih terkonfirmasi positif BTA
- 4) Baik sputum sebagai kontrol dan sputum sebagai test memiliki tingkat kepositifan yang sama
- 5) Pasien bersedia diambil sputumnya dan menjadi subjek untuk penelitian ini.
- 6) Pasien dalam keadaan sadar penuh dan melakukan prosedur pengambilan sputum dengan benar.

b. Kriteria Eklusi

- 1) Sputum pasien yang terkonfirmasi negatif BTA
- 2) Pasien sudah menjalani pengobatan TB tahap lanjutan
- 3) Pasien menjalani pengobatan TB tahap intensif dan sudah terkonfirmasi negatif BTA
- 4) Sputum kering sehingga tidak dapat dijadikan bahan penelitian.
- 5) Air liur

## D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Sputum pasien TB	Sputum seseorang yang tercatat melakukan pemeriksaan sputum dengan hasil BTA positif dan memenuhi kriteria inklusi di Laboratorium Puskesmas Sukaraja dan panjang	Pengumpulan dan pemeriksaan	Mikroskop	1. Scanty 2. Positif 1 3. Positif 2 4. Positif 3	Nominal
2	Natrium Hidroksida	Larutan Natrium Hidroksida yang telah dilakukan pengenceran dengan aquadest hingga konsentrasi 4%	Pengenceran	Labu ukur	NaOH 4%	Nominal
3	Hasil Pemeriksaan mikroskopis BTA	Pemeriksaan sputum yang diperiksa dengan menggunakan mikroskop dengan metode pewarnaan Ziehl Neelson pada pasien TB	Pengamatan dan perhitungan	Mikroskop Dan Atlas	Jumlah BTA per 100 lapang pandang	Rasio

## E. Pengumpulan Data

Data yang digunakan adalah data primer. Data primer tersebut diperoleh dari hasil eksperimental yaitu hasil pemeriksaan mikroskopis BTA pada sampel sputum tanpa dan dengan penambahan NaOH 4%.

Data diperoleh dengan cara dan prosedur yaitu :

- a. Melakukan penelusuran pustaka untuk memperoleh perspektif ilmiah dari penelitian.
- b. Melakukan pra survey pada lokasi penelitian yaitu di Puskesmas Rawat Inap Sukaraja dan Panjang Kota Bandar Lampung.
- c. Mengajukan surat izin penelitian dan pengambilan data ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang untuk selanjutnya diteruskan kepada Badan Kesbangpol hingga Puskesmas Rawat Inap Sukaraja dan Panjang.

- d. Setelah mendapatkan surat izin dari pihak Puskesmas, kemudian peneliti melakukan pengambilan sampel di laboratorium Puskesmas Rawat Inap Sukaraja dan Panjang Kota Bandar Lampung.
- e. Melakukan penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium bakteriologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis, dengan langkah sebagai berikut:

1. Alat dan Bahan

- a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pot sputum, tempat penyimpanan sampel yang terdiri dari *cool box* dan *cool gel*, *Bio Safety Cabinet* (BSC), vortex, *Object glass*, tabung sentrifuge bertutup, pinset, spidol, lidi, tang, tissue, bunsen, korek api, alkohol 70%, minyak emersi, kapas, mikroskop, Alat Pelindung Diri (APD) seperti jas lab, masker, handscoon, face shield, dan rak penyusun pewarnaan.

- b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel sputum, satu set lengkap pewarnaan Ziehl-Neelsen (Karbolf fuchsin, asam alkohol, dan methylene-blue), dan NaOH 4%.

2. Metode Pemeriksaan

Metode pemeriksaan yang digunakan pada penelitian ini adalah pemeriksaan mikroskopis BTA dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen.

3. Cara Kerja

- a. Prosedur Pengumpulan Sampel Sputum

- 1) Waktu pengumpulan sputum

Berdasarkan Permenkes 67 tahun 2016 tentang Penanggulangan Tuberkulosis, pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis dan follow up memerlukan masing-masing 2 (dua) contoh uji sputum, terdiri dari:

- a) S (Sewaktu, pertama): Sputum dikumpulkan saat datang pada kunjungan pertama ke laboratorium fasyankes
- b) P (Pagi): Sputum dikumpulkan pagi segera setelah bangun tidur pada hari ke-2, dibawa langsung oleh pasien ke laboratorium fasyankes

Diperbolehkan untuk pasien mengumpulkan dua sputum Sewaktu pada hari yang sama untuk menghindari kemungkinan hilangnya pasien jika datang keesokan harinya. Jarak pengambilan sputum minimal 1(satu) jam, dan sputum yang dikumpulkan harus berkualitas (Kemenkes, 2017).

## 2) Tempat pengumpulan Sputum

Pengumpulan sputum dilakukan di ruangan terbuka dan mendapat sinar matahari secara langsung atau di ruangan dengan ventilasi yang baik, untuk mengurangi kemungkinan penularan akibat percikan sputum infeksius (Kemenkes,2017).

## 3) Cara pengumpulan sputum

### a) Persiapan pasien

- (1) Pasien diberitahu bahwa contoh uji sputum sangat bernilai untuk menentukan status penyakitnya, karena itu anjuran pemeriksaan dua untuk pasien baru dan dalam pemantauan pengobatan harus dipenuhi.
- (2) Sputum yang baik adalah yang berasal dari saluran nafas bagian bawah, berupa lendir yang berwarna kuning kehijauan (mukopurulen). Pasien yang akan diambil sputum dianjurkan dalam keadaan perut kosong.
- (3) Bila ada kesulitan mengeluarkan sputum, pasien harus diberi obat ekspektoran yang dapat merangsang pengeluaran sputum dan diminum pada malam sebelum mengeluarkan sputum atau melakukan olahraga ringan sebelum mengeluarkan sputum juga merangsang sputum keluar.
- (4) Pasien dianjurkan membaca prosedur tetap pengumpulan sputum yang tersedia di tempat/lokasi mengeluarkan sputum (Kemenkes, 2017).

### b) Persiapan alat

- (1) Pot sputum bersih dan kering, diameter mulut pot 4 - 6 cm, transparan, berwarna bening, bertutup ulir. Pot tidak boleh bocor. Sebelum diserahkan kepada pasien, pot sputum harus sudah diberi identitas sesuai identitas/nomor register pada form TB 05.
- (2) Formulir Permohonan Pemeriksaan Laboratorium (TB 05)
- (3) Label, pensil, spidol (Kemenkes, 2017).

c) Cara mengeluarkan sputum

- (1) Kumur dengan air sebelum mengeluarkan sputum
- (2) Bila memakai gigi palsu, dilepas sebelum berkumur
- (3) Tarik nafas dalam 2-3 kali dan setiap kali hembuskan dengan kuat dan masukan sputum yang keluar kedalam pot sputum.
- (4) Pot ditutup dengan rapat, dengan cara memutar tutupnya.
- (5) Tangan pasien harus dicuci dengan air dan sabun antiseptic (Kemenkes, 2017).

4) Penilaian kualitas contoh uji sputum secara mikroskopis

Petugas laboratorium harus melakukan penilaian terhadap sputum pasien. Tanpa membuka tutup pot, petugas laboratorium melihat sputum melalui dinding pot yang transparan Hal-hal yang perlu diamati adalah:

- Volume 3,5 ml
- Kekentalan: mukoid
- Warna: Hijau kekuningan (purulen)

Bila ternyata contoh uji yang diserahkan adalah air liur, petugas harus meminta pasien mengeluarkan sputum kembali, sebaiknya dengan pendampingan. Perhatian pada saat mendampingi pasien mengeluarkan sputum, petugas harus berada di belakang pasien dan hindari arah angin menuju petugas (Kemenkes, 2017).

b. Prosedur pembuatan sediaan

1) Sediaan tanpa penambahan NaOH 4%

- a) Bagian sputum yang purulent dipilih dan diambil dengan menggunakan lidi yang telah dipipihkan ujungnya dengan tang.
- b) Sputum yang terdapat pada ujung lidi diletakkan di atas kaca sediaan. Disebarkan dengan bentuk oval, ukuran 2x3 cm, dan tidak terlalu tipis untuk menghindari sediaan menjadi kering sebelum diratakan.
- c) Sediaan diratakan dengan lidi membentuk spirial kecil-kecil. Jangan membuat spirial-spirial kecil pada sediaan yang sudah kering, karena dapat terkelupas dan menjadi aerosol yang berbahaya.
- d) Sediaan dikeringkan pada suhu kamar.

- e) Lidi yang telah digunakan dimasukkan kedalam wadah yang dilapisi plastik (di bagian dalam) berisi desinfektan.
- f) Sediaan dilakukan fiksasi dengan pemanasan:
  - a. Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset.
  - b. Pastikan kaca sediaan menghadap keatas.
  - c. Sediaan dilewatkan diatas api bunsen yang berwarna biru 2-3 kali selama 1-2 detik.
  - g) Sediaan dikeringkan di atas rak sediaan (Kemenkes, 2017).
- 2) Sediaan dengan penambahan NaOH 4%
  - a) Alat dan bahan yang akan digunakan dipersiapkan.
  - b) Larutan NaOH 4% sebanyak 500  $\mu$ L ditambahkan ke dalam tabung sentrifuge bertutup yang telah berisi 500  $\mu$ L sampel sputum.
  - c) Tabung sentrifuge yang telah berisi campuran sampel sputum dengan NaOH 4% dihomogenkan diatas mesin homogen (*Vortex shaker*) dengan kecepatan 2500 rpm selama 20 detik.
  - d) Larutan homogenisasi dipusingkan pada sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
  - e) Endapan larutan dipipet lalu diletakkan di atas objek glass
  - f) Cara pembuatan sediaan sputum sama seperti pembuatan sediaan sputum secara konvensional (Tim Mikrobiologi, 2017).
- c. Prosedur Pewarnaan Ziehl-Neelsen
  - 1) Sediaan diletakkan dengan bagian sediaan menghadap ke atas pada rak yang ditempatkan di atas bak cuci, antara satu sediaan dengan sediaan lainnya masing-masing berjarak kurang lebih 1 jari.
  - 2) Seluruh permukaan sediaan digenangi dengan carbol fuchsin 1% melalui corong yang dilapisi kertas saring, dimulai dari ujung kaca sediaan hingga menutupi seluruh permukaan kaca sediaan.
  - 3) Sediaan dipanaskan dari bawah dengan menggunakan sulut api sampai keluar uap (jangan sampai mendidih), kemudian dinginkan selama 10 menit.

- 4) Sediaan dibilas secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembrotkan air tepat pada sediaan.
- 5) Sediaan dimiringkan menggunakan penjepit kayu atau pinset untuk membuang sisa air.
- 6) Sediaan digenangi dengan asam alkohol sampai tidak tampak warna merah carbol fuchsin.
- 7) Sediaan dibilas secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembrotkan air tepat pada sediaan.
- 8) Permukaan sediaan digenangi dengan methylene blue 0,1% 1 menit
- 9) Sediaan dibilas secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembrotkan air tepat pada sediaan.
- 10) Sediaan dikeringkan di rak pengering (Kemenkes, 2017).

d. Pemeriksaan Mikroskopis

- 1) Sediaan sputum dilakukan pembacaan menggunakan mikroskop dengan objektif 10x untuk menentukan fokus, kemudian pada lensa objektif 100x untuk pembacaan.
- 2) Pembacaan dilakukan disepanjang garis horizontal terpanjang dari ujung kiri ke ujung kanan.
- 3) Setiap pembacaan satu lapang pandang, dihitung jumlah BTA, kemudian dicatat pada logbook pemeriksaan dan dilakukan pengambilan gambar disetiap lapang pandang.
- 4) Setelah dilakukan pengamatan di 100 lapang pandang, kemudian ditotal jumlah BTA keseluruhannya dan hasil ditulis pada logbook pemeriksaan.

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan data**

Pengolahan data dilakukan setelah mendapatkan hasil. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program komputerisasi.

#### a. Editing

Pada tahap ini, peneliti melakukan penelitian terhadap data yang diperoleh kemudian dimasukan apakah terdapat kekeliruan didalam pengisian. Secara umum editing ini merupakan tahap dimana dilakukannya kegiatan pengecekan dan perbaikan isian formular.

#### b. Coding

Peng “kode”an atau “coding”, yakni mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan.

Coding kelompok sampel:

1 = Kelompok sputum tanpa NaOH 4%

2 = Kelompok sputum dengan NaOH 4%

#### c. Cleaning

Cleaning data merupakan kegiatan dimana dilakukan pengecekan kembali data yang sudah dientry. Hal ini dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya kesalahan dalam memasukan data.

### **2. Analisa Data**

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan mikroskopis BTA akan dikelompokkan kedalam bentuk tabel, kemudian data tabel diolah menggunakan uji *Independent T-Test* untuk melihat perbandingan hasil pemeriksaan mikroskopis BTA pada sampel sputum tanpa dan dengan penambahan NaOH 4% .

### **G. Ethical Clearance**

Penelitian ini menggunakan manusia sebagai subyek penelitian, sehingga perlu dilakukan proses telaah secara etik dengan menyerahkan naskah proposal ke Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Nomor Laik Etik pada penelitian ini adalah No.164/KEPK-TJK/X/2022, pada tanggal 30 Mei 2022. Subyek penelitian ini adalah pasien TB yang terkonfirmasi positif BTA di puskesmas rawat inap Panjang dan Sukaraja, subjek penelitian diberikan penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian, hal tersebut dalam bentuk lisan maupun tertulis dengan menggunakan inform consent. Subyek berhak menolak untuk ikut serta tanpa sanksi apapun. Identitas subyek penelitian bersifat dirahasiakan. Seluruh biaya penelitian ditanggung oleh peneliti.