

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan desain penelitian *cross sectional*. Penderita TB BTA positif sebagai variabel bebas dan granula toksik sebagai variabel terikat. Pengukuran dan pengamatan dilakukan sekaligus pada satu saat.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Tempat pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Puskesmas Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung dan Laboratorium Hematologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Januari s.d April 2020.

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

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

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien TB paru BTA positif kasus baru di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung.

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

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari seluruh populasi dengan teknik *Consecutive sampling*. *Consecutive sampling* dilakukan dengan mengambil semua subjek yang memenuhi kriteria inklusi, dan tidak dalam kriteria eksklusi. Kriteria yang dipakai adalah sebagai berikut:

##### **a. Kriteria Inklusi**

- 1) Pasien yang didiagnosa menderita penyakit TB BTA positif berdasarkan yang tercatat di dalam buku register TB di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung.
- 2) Bersedia menjadi subjek dalam penelitian dengan memberikan *informed consent*.

3) Pasien TB paru yang baru terdiagnosa dan belum menjalani pengobatan.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Pasien dengan peradangan kronik (arthritis rheumatoid, endocarditis, osteomyelitis, diabetes, pielonefritis, GGK, Kanker)
- 2) Pasien dengan diagnosa HIV/AIDS

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Variabel Bebas : Penderita TB BTA Positif	Pasien yang didiagnosa secara mikroskopik ditemukan adanya BTA pada sediaan sputum di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung	Rekam medik	Observasi	1. Sacnty 2. 1+ 3. 2+ 4. 3+	Ordinal
2.	Variabel Terikat : Granula toksik	Granula abnormal pada neutrofil yang terlihat lebih kasar dan mencolok, diperiksa menggunakan sediaan apus darah (SAD) yang dicat dengan Giemsa pada pasien TB Paru BTA positif kasus baru di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung	Mikroskop	Sediaan Apus Darah (SAD) dengan pengecatan Giemsa	1. (+) terdapat granula toksik dalam SAD 2. (-) tidak terdapat granula toksik dalam SAD	Ordinal

#### E. Teknik Pengumpulan Data

Data yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer diperoleh dengan melakukan pemeriksaan keberadaan granula toksik dengan sediaan apus darah (SAD) pada darah pasien TB Paru. Sedangkan data sekunder diperoleh dengan mencatat dari Rekam Medik pemeriksaan BTA di Laboratorium Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung.

1. 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 Panjang Kota Bandar Lampung.
  - c. Mengajukan surat izin penelitian dan pengambilan data kepada Direktur Poltekkes Tanjungkarang untuk selanjutnya diteruskan kepada Badan Kesbangpol hingga Ketua Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung.
  - d. Setelah mendapat surat izin dari pihak Puskesmas, kemudian peneliti melakukan penelusuran status pasien sekaligus pengambilan data sekunder yang didiagnosa dokter menderita penyakit TB paru dilakukan pada bagian rekam medik Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung. Meminta izin dari pasien atau keluarga pasien agar dapat ikut serta dalam penelitian (*informed consent*).
  - e. Pengambilan data primer dilakukan dengan melakukan pengambilan darah pada pasien TB Paru yang sudah diperiksa dahaknya secara mikroskopis dan terdiagnosa BTA positif. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap keberadaan granula toksik pada darah pasien TB Paru, dengan langkah sebagai berikut:
    1. Prosedur pemeriksaan
      - a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit, ikat pembendungan, tabung EDTA, ice box, objek glass, pipet tetes, dan mikroskop.
      - b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah vena, methanol absolute, zat warna Giemsa, kapas alkohol 70%, dan minyak imersi.
      - c. Bahan pemeriksaan

Bahan pemeriksaan yang digunakan adalah darah vena + K<sub>2</sub>EDTA.
      - d. Metode pemeriksaan

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah Sediaan Apus Darah (SAD) dengan pewarnaan Giemsa.

e. Prinsip pemeriksaan

Darah + antikoagulan diteteskan pada objek glass dan dibuat apusan menyerupai lidah, kemudian sediaan diwarnai dengan pewarnaan *giemsa* atau *wright* lalu dikeringkan kemudian dibaca pada mikroskop.

f. Cara kerja

a. Teknik pengambilan sampel darah vena

- 1) Desinfeksi area vena dengan menggunakan alkohol 70% dan biarkan sampai mengering
- 2) Memasang ikat pembendung pada lengan atas dan pasien diminta mengepal dan membuka tangannya berkali-kali agar vena terlihat jelas.
- 3) Kulit di atas vena ditegangkan dengan jari-jari tangan supaya vena tidak dapat bergerak.
- 4) Kulit ditusuk dengan jarum dan spuit sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas.
- 5) Ikat pembendung dilepaskan atau diregangkan secara perlahan-lahan, lalu ditarik penghisap spuit sampai mendapatkan sejumlah darah yang dikehendaki.
- 6) Letakkan kapas kering di atas jarum dan cabut spuit.
- 7) Kepada pasien, diminta untuk menekan kapas di tempat tusukan tadi selama beberapa menit.
- 8) Lepaskan jarum dari semprit, kemudian dimasukkan kedalam tabung yang telah terisi antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA.
- 9) Dihomogenkan dan segera dibuat sediaan apus (Gandasoebrata, 2011).

a. Persiapan sampel darah

- 1) Darah yang diambil merupakan darah vena sebanyak 1 ml darah kemudian dimasukkan kedalam tabung yang telah terisi oleh antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA. Perbandingan darah dan antikoagulan yang dipakai adalah 1 mg K<sub>2</sub>EDTA untuk 1ml darah.
- 2) Darah kemudian dihomogenkan.

3) Dimasukkan tabung yang berisi darah dan antikoagulan kedalam ice box untuk menghindari adanya gangguan yang akan menyebabkan darah lisis didalam perjalanan menuju laboratorium penelitian.

b. Pembuatan sediaan apus darah

- 1) Dipilih kaca objek yang kering, bersih, bebas debu, dan bebas lemak sebagai kaca objek preparat.
- 2) Dipilih kaca objek dengan tepi yang rata untuk digunakan sebagai kaca penghapus.
- 3) Satu tetes kecil darah diletakkan pada 2-3 mm dari ujung kaca objek preparat.
- 4) Kaca penghapus diposisikan dengan membentuk sudut  $30^{\circ}$  -  $45^{\circ}$  terhadap objek di depan tetes darah.
- 5) Kaca penghapus ditarik kebelakang sehingga menyentuh tetes darah, ditunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut.
- 6) Dengan gerak yang mantap didorong kaca penghapus sehingga terbentuk apusan darah.
- 7) Apusan darah dibiarkan mengering diudara.
- 8) Ditulis identitas pasien pada bagian yang tebal apusan dengan pensil (Gandasoebrata, 2011).

c. Pewarnaan Giemsa

- 1) Sediaan apus yang akan dipulas diletakkan di atas rak tempat memulas dengan lapisan darah menghadap keatas,
- 2) Difiksasi sediaan apus dengan methanol absolut, dibiarkan selama 2-5 menit.
- 3) Kelebihan methanol absolut dibuang dari sediaan apus.
- 4) Sediaan digenangi dengan zat warna Giemsa selama 15 menit.  
Giemsa stock : Buffer pH 6,4  
4 tetes : 1 ml
- 5) Sisa cat Giemsa dialirkan bersama dengan air mengalir.

6) Sediaan diletakkan dalam sikap vertikal dan dibiarkan mengering diudara (Gandasoebrata, 2011).

d. Hitung jenis leukosit dan pemeriksaan granula toksik

Prinsip : Jenis leukosit secara sistematis dihitung pada setiap lapang pandang dengan menggunakan automatic differential cell counter atau dicatat hingga ditemukan sejumlah 100 leukosit (Kiswari, 2014). Cara kerja:

- 1) Sediaan apus diletakkan di bawah mikroskop pada lensa objektif 10x dan lensa okuler 10x untuk mengamati penyebaran sel darah yang merata.
- 2) Diganti lensa objektif 10x dengan lensa objektif 40x untuk melakukan penilaian terhadap leukosit pada sediaan apus darah.
- 3) Kemudian dengan menggunakan lensa objektif 100x dan okuler 10x dan bantuan minyak imersi diperiksa bagian sediaan apus yang tipis untuk memperjelas morfologi sel darah.
- 4) Diamati keadaan morfologi leukosit.
- 5) Catat pada tabel perhitungan jenis leukosit sesuai jenis yang ditemukan
- 6) Diperhatikan adanya granula toksik dengan ciri adanya sitoplasma yang terwarnai lebih mencolok keunguan dan granula lebih kasar.
- 7) Adanya granula toksik menunjukkan keadaan morfologi leukosit yang tidak normal atau abnormal sebagai benda inklusi dalam leukosit (Gandasoebrata, 2011).

f. Pemeriksaan darah lengkap

Metode : Fotometri

Prosedur kerja :

- 1) Menghidupkan alat dengan menekan tombol Power pada stabilizer, UPS dan alat
- 2) Pilih primer System pada layar lalu tekan "OK"
- 3) Petugas laboratorium menekan " net sampel" dari main menu lalu mengetik ID/nama pasien
- 4) Petugas melakukan homogenisasi sampel
- 5) Petugas memasukkan sampel darah pasien ke jarum Open Tube lalu menekan start plat, darah akan terhisap ke dalam alat secara otomatis.

- 6) setelah terdengar bunyi *beep*, petugas menarik sampel dari Open tube.
- 7) Petugas menunggu hasil yang keluar pada layar dalam waktu 57 detik dan hasil tersimpan di dalam memori.
- 8) petugas mencatat hasil yang muncul pada layar monitor ke buku register lab.
- 9) untuk melihat hasil pada memori, petugas menekan “sampel”  
(SOP Puskesmas Kota Bandar Lampung)

g. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit Secara Manual

Prinsip : Sampel darah diencerkan dengan larutan Turk maka sel darah selain leukosit akan hancur oleh asam asetat kemudian leukosit diwarnai oleh gentian violet. Jumlah leukosit dalam volume pengenceran tersebut dihitung dengan menggunakan kamar hitung.

Alat dan bahan : Sampel darah, larutan turk, warna gentian violet, bilik hitung, mikroskop, tabung reaksi.

Cara Kerja :

1. Dipipet 380 $\mu$ l larutan turk ke dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan 20  $\mu$ l sampel darah EDTA ke dalam larutan tersebut (pengenceran 20x) dan dibilas.
3. Dicampur sampai homogen selama 1 menit.
4. Diteteskan ke kamar hitung dan diamkan 3 menit.
5. Dihitung jumlah leukosit dalam 4W dengan bantuan mikroskop pembesaran 10x

Perhitungan : 4W x 50

Tabel 3.2 Nilai normal hitung jumlah dan jenis leukosit

Pemeriksaan	Nilai normal
Jumlah neutrofil batang	2-6%
Jumlah neutrofil segmen	50-70%
Jumlah limfosit	20-40%
Jumlah monosit	2-8%
Jumlah eosinfoil	1-3%
Jumlah basofil	0-1%
Jumlah leukosit	5000-10.000/ $\mu$ l

Sumber : BLUD UPT Puskesmas Kota Bandar Lampung

## 2. Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah data primer yaitu terdapatnya granula toksik di neutrofil pada darah pasien TB Paru. Kemudian, data disajikan dalam bentuk tabulasi.

### 2. Analisis Data

Data diperoleh dari pemeriksaan granula toksik pada sediaan apus darah dan data tersebut akan dianalisis dengan cara :

#### a. Analisa Univariat

Analisa ini digunakan untuk mengamati variabel yaitu hasil derajat positività BTA dan berapakah presentase sampel yang positif terdapat granula toksik.

#### b. Analisa Bivariat

Adalah analisa yang menggunakan tabel silang untuk memberikan keterangan lebih lengkap terhadap data yang diolah. Analisa ini digunakan untuk melihat hubungan derajat positività BTA dengan keberadaan granula toksik di Puskesmas Panjang Kota Bandar Lampung. Adapun uji statistik yang digunakan adalah *chi-square*.

## 3. *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. Peneliti mendapatkan laik etik dengan nomor No.061/KEPK-TJK/II/2020. Subyek penelitian diberikan penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian yang akan dilaksanakan, hal tersebut dalam bentuk lisan maupun tertulis dengan menggunakan *informed consent*. Subjek berhak menolak untuk ikut serta tanpa sanksi apapun. Identitas subyek penelitian bersifat dirahasiakan. Seluruh biaya yang digunakan untuk penelitian ini ditanggung oleh peneliti.

