

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian analitik dengan desain penelitian *cross sectional*.

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

##### 1. Lokasi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Imunoserologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan UPT Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung.

##### 2. Waktu

Waktu penelitian dilakukan pada bulan juni 2024

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

##### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ialah satpam pada Politeknik Kesehatan Tanjungkarang yang merupakan perokok aktif.

##### 2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini berjumlah 30 orang yang merupakan bagian dari populasi dengan Teknik pengambilan sampel *purposive sampling* yang memenuhi kriteria inklusi untuk dijadikan sampel. Jumlah sampel yang dipilih adalah responden yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

Kriteria Inklusi

- 1) Perokok aktif yang merupakan perokok ringan, sedang, berat
- 2) Berjenis kelamin Laki laki
- 3) Berusia >40 th
- 4) Tidak sedang demam
- 5) Tidak sedang mengkonsumsi obat obatan tertentu
- 6) Bersedia menjadi responden

Penentuan sampel dilakukan dengan menggunakan rumus slovin.

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

Keterangan:

n= Jumlah sampel penelitian

N= Jumlah populasi

e= error atau kelonggaran ketidaktelitian, bisa ditoleransi 5%

#### D. Variable dan Definisi Operasional

Tabel 3 1 Tabel Definisi Operasional

| No | Variabel                  | Definisi Operasional  | Cara Ukur                                   | Alat Ukur  | Hasil Ukur                                   | Skala Data |
|----|---------------------------|---|---|--|--|------------|
| 1  | Lama Merokok              | Lama waktu responden merokok dari awal merokok hingga penelitian ini dilakukan.                             | Survey                                      | Kuisisioner  | 1. 5-10 tahun<br>2. <10 tahun                | Ordinal    |
| 2  | Jumlah Rokok yang dihisap | Rata rata banyak produk tembakau yang dihisap oleh responden per hari                                       | Survey                                      | Kuisisioner  | Ringan: 1-10<br>Sedang: 11-20<br>Berat: < 20 | Ordinal    |
| 3. | <i>C-Reactive Protein</i> | Penanda inflamasi atau peradangan yang terjadi pada seseorang yang menghisap asap rokok                     | Metode Aglutinasi Lateks                    | CRP Latex  | mg/L   | Nominal    |
| 4  | Jumlah Leukosit           | Melihat ada atau tidaknya peningkatan leukosit terhadap tubuh Ketika terjadi infeksi bakteri dan inflamasi. | Metode otomatis dengan impedansi volumetrik | <i>Hematology Analyzer 3 dif Boule Medonic M20</i> | sel/ $\mu$ L                                 | Nominal    |

### E. Prosedur Penelitian

1. Melakukan pra survey pada lokasi penelitian yaitu di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang
2. Mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
3. Pasca mendapatkan surat perizinan, peneliti melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan UPT Puskesmas Simpur.
4. Peneliti menjelaskan tentang *Informed Consent* kepada responden. Jika responden bersedia maka, responden diminta untuk mengisi *Informed Consent*
5. Peneliti melakukan pengambilan darah pada responden dan melakukan pemeriksaan kadar CRP di Laboratorium Immunoserologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan pemeriksaan jumlah Leukosit di UPT Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung.

### F. Pengumpulan Data

Data yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapatkan dari hasil pengisian kuisioner yang telah disiapkan. Data yang diperoleh dengan cara:

1. Melakukan pendataan dengan menggunakan Kuisioner
2. Pengambilan sampel dilakukan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, dengan Teknik pengambilan darah vena menggunakan spuit, yaitu:
  - a. Alat: Handscoon, masker, plaster, spuit/vacutainer, holder, tourniquet, tabung darah, slide, batang pengaduk, rotator, mikropipet, alat *Hematology analyzer Boule Medonic M20*, Centrifuge, Tube serum dan Tip.
  - b. Bahan : alcohol swab, aquadest, larutan standar, reagen kerja, serum, saline 9 g/ L
  - c. Bahan pemeriksaan: darah vena yang dimasukkan pada tabung EDTA untuk pemeriksaan jumlah leukosit menggunakan alat *Hematology analyzer Boule Medonic M20* dan darah vena yang dimasukkan pada tabung kuning untuk pemeriksaan *C-Reactive Protein*.

d. Cara pengambilan Darah Vena:

- 1) Membersihkan area vena (fossa cubiti) dengan menggunakan kapas alcohol 70% dan biarkan sampan mengering
- 2) Lakukan pembendungan ikatan dengan tourniquet (dipasang pada lengan bagian atas kira kira diatas siku  $\pm 10$  cm, dan mintalah pasien untuk mengepalkan tangan nya agar vena terlihat jelas)
- 3) Buka spuit dari kemasan
- 4) Buka jarum vacutainer/spuit sehingga terbuka
- 5) Lakukan penusukan ke dalam lumen vena dengan posisi lubang jarum menghadap keatas
- 6) Setelah darah tampak mengalir lepaskan bendungan vena/ tourniquet
- 7) Hisap darah dengan cara ditarik secara perlahan sampai jumlah darah yang diinginkan
- 8) Kapas alcohol diletakan diatas jarum spuit kemudian cabut spuit secara perlahan
- 9) Tutup Bekas tusukan tadi dengan menggunakan plester dan tekan kira kira selama 1 menit
- 10) Darah dialirkan ke dalam tabung melalui dinding tabung dengan posisi spuit tangan lurus dan tabung darah miring yang telah diberi identitas
- 11) Buang spuit dan jarum pada tempat sampah infeksius yang disediakan.

Pemeriksaan kadar *C-Reactive Protein* dilakukan di Laboratorium Immunoserologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dan Hitung jumlah Leukosit dilakukan di Laboratorium UPT Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung. Dengan metode Aglutinasi Latex menggunakan CRP Latex dan *hematology analyzer* untuk pemeriksaan jumlah leukosit dengan prosedur kerja:

a. Pemeriksaan *C-Reactive Protein*

Metode : Aglutinasi Latex

Prinsip : Penambahan partikel Latex yang dilapisi antibody anti CRP pada serum atau plasma penderita sehingga akan terjadi aglutinasi. Untuk menentukan titer CRP, serum atau plasma penderita diencerkan dengan buffer glisin dengan pengenceran bertingkat (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 dan seterusnya) lalu

direaksikan dengan latex, titer CRP adalah pengenceran tertinggi yang masih terjadi aglutinasi.

Cara Kerja:

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- 2) Pemeriksaan Kualitatif
  - a. Kondisikan semua reagen dan sampel pada suhu ruang
  - b. Sebelum digunakan, reagen CRP dikocok secara perlahan
  - c. Siapkan slide berlatang belakang hitam di tempat yang datar
  - d. Teteskan Kontrol positif pada lingkaran 1
  - e. Pipet  $50\mu\text{l}$  sampel pada lingkaran 2
  - f. Teteskan Kontrol negatif pada lingkaran 3
  - g. Lalu teteskan 1 tetes reagen latex ke masing masing lingkaran.
  - h. Homogenkan menggunakan batang pengaduk hingga tersebar dan menutupi cincin lingkaran. Gunakan pengaduk baru untuk masing masing lingkaran
  - i. Kemudian taruh kartu diatas rotator, putar dengan kecepatan 100 rpm selama 2 menit
  - j. Perhatikan aglutinasi yang terjadi

Interpetasi Hasil:

Positif (+) : Terjadi Aglutinasi

Negatif (-) : Tidak terjadi Aglutinasi

- 3) Pemeriksaan Semi Kuantitatif
  - a. Disiapkan slide kartu yang akan digunakan
  - b. Pipet  $50\mu\text{l}$  Nacl 0,85% ke lingkaran 2, 3, 4, dan 5
  - c. Pipet  $50\mu\text{l}$  sampel ke lingkaran 1 dan 2
  - d. Homogenkan sampel dan Nacl 0,85% pada lingkaran 2 dengan cara menarik campuran keatas dan kebawah menggunakan mikropipet secara hati hati untuk menghindari pembentukan gelembung.
  - e. Dipindahkan  $50\mu\text{l}$  dari lingkaran 2 ke lingkaran 3
  - f. Melakukan pengenceran berurutan dengan cara yang sama sampai lingkaran terakhir, buang  $50\mu\text{l}$  di ujungnya.

- g. Dengan menggunakan batang pengaduk, sebarkan sampel yang telah diencerkan ke seluruh area sekitar lingkaran mulai dari lingkaran 5 dan ke belakang hingga sampel di lingkaran 1.
- h. Tambahkan reagen latex pada setiap lingkaran, kemudian homogenkan kembali menggunakan batang pengaduk.
- i. Kemudian taruh kartu diatas rotator, putar dengan kecepatan 100 rpm selama 2 menit.

#### Interpretasi Hasil

|              |          |
|--------------|----------|
| Sensitivitas | : 6 mg/L |
| 1/2          | 12 mg/L  |
| 1/4          | 24 mg/L  |
| 1/8          | 48 mg/L  |
| 1/16         | 96 mg/L  |

#### b. Pemeriksaan Jumlah Leukosit

Metode : Otomatis (*Hematology Analyzer*)

Prinsip : Sampel darah dicampur dengan reagen pengencer sebanyak 200x proses hemolyzing untuk mengukur jumlah leukosit. Selanjutnya sampel dilakukan pengenceran lanjutan sebanyak 200x menjadi 40.000x untuk mengukur jumlah eritrosit dan trombosit. Sampel diproses pada blok data pemrosesan dan hasilnya akan ditampilkan pada monitor dan dicetak

Prosedur:

- 1) Nyalakan alat *Hematology Analyzer Boule Medonic M20*, tunggu prosen rinse dan warming alat selama sekitar 10 menit.
- 2) Kemudian lakukan background check dengan cara klink new sample, next profile.
- 3) Lihat bagian SEQ, tampilan berubah dari blood menjadi background
- 4) Klik tombol start 1:1, tunggu proses selesai
- 5) Klik pilihan new sample
- 6) Masukkan ID pasien
- 7) Pastikan SEQ pada posisi blood
- 8) Lakukan pemeriksaan whole blood dengan cara:
  - a. homogenkan sampel

- b. Letakan tabung sampel pada jarum sample 1:1 sampai jarum terendam penuh
- c. Klik start
- d. Segera pindahkan sampel setelah ada tanda klik dari alat
- e. Tunggu proses sampai hasil muncul di layar alat
- f. Catat hasil pemeriksaan

*Catatan:* alat disimpan diruangan ber - AC di Laboratorium pemeriksaan.

Nilai Normal Leukosit/ WBC 5.000 - 10.000  $\mu$ L darah

## **G. Pengolahan Data dan Analisa Data**

### 1 Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh dari penelitian ini adalah data primer yaitu Perokok aktif menggunakan kuisisioner, kadar *C-Reactive Protein* dan Jumlah Leukosit, kemudian data diolah dengan Langkah sebagai berikut:

- a. *Editing Data*, merupakan tahap penulis melakukan penelitian terhadap data yang diperoleh dan melihat adanya kekeliruan atau tidak dalam data tersebut
- b. *Entry Data*, adalah tahap dimana data yang telah decoding kemudian diolah dengan menggunakan program di Komputer
- c. *Procesing Data*, merupakan proses pengetikan data dari check list ke program computer agar dapat dianalisis
- d. *Cleaning Data*, adalah tahap pengecekan Kembali data yang sudah dimasukan, apakah ada kesalahan disaat memasukan data tersebut.

### 2 Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisa menggunakan Analisa data univariat untuk melihat distribusi frekuensi dari masing masing variabel yang diteliti dan analisa data bivariat dengan uji *chi square*, untuk mendapatkan hubungan kebiasaan merokok terhadap *C-Reactive Protein* dan Jumlah Leukosit pada Perokok Aktif.

## **H. Ethical Clearence**

Keterangan Layak Etik No. 298/KEPK-TJK/III/2024. Penelitian ini menggunakan sampel manusia sebagai subjek dengan menggunakan darah vena untuk dijadikan sampel pemeriksaan, sehingga perlu dilakukan proses

telaah secara etik dengan menyerahkan naskah proposal ke Komite Etik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Seluruh subyek penelitian akan diberi penjelasan mengenai tujuan dan prosedur penelitian serta diminta persetujuan dengan *Informed Consent* tertulis. Pengambilan sampel darah vena dilakukan sesuai dengan standar prosedur Operasional yang berlaku. Dalam proses pengambilan darah terdapat kemungkinan *hematoma* yang dapat ditangani dengan cara mengompres dengan air hangat. Subyek berhak menolak untuk ikut serta tanpa konsekuensi apapun. Identitas subyek penelitian ini akan dirahasiakan. Dan seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti itu sendiri.