

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian adalah analitik kuantitatif menggunakan desain penelitian cross sectional. Variabel bebas pada penelitian ini adalah frekuensi transfusi darah pada pasien talasemia mayor dan variabel terikat adalah kadar feritin pada pasien talasemia mayor.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Pengambilan data dan sampel dilakukan di Rumah Sakit Dr. H. Abdul Moeloek. Pemeriksaan feritin dilakukan di Laboratorium Imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan April - Mei tahun 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian adalah pasien talasemia mayor di Rumah Sakit Dr. H. Abdul Moeloek tahun 2024.

2. Sampel

Sampel penelitian sejumlah 28 sampel diambil dari populasi dengan teknik *accidental sampling*. *Accidental sampling* dilakukan dengan mengambil semua subjek yang memenuhi kriteria inklusi, dan tidak dalam kriteria eksklusi.

a) Kriteria inklusi

- 1) Pasien talasemia yang rutin melakukan transfusi darah dalam 6 bulan terakhir.
- 2) Bersedia mengikuti penelitian yang dibuktikan dengan menandatangani lembar informed consent.

b) Kriteria eksklusi

- 1) Pasien dengan diagnosis talasemia minor atau intermedia.
- 2) Pasien talasemia dengan penyakit penyerta atau komorbid.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Pasien talasemia mayor	Pasien talasemia mayor yang melakukan terapi pemberian transfusi darah di RS. Dr. H. Abdul Moeloek	Observasi	Data rekam medik	Jumlah pasien talasemia mayor	Nominal
2.	Frekuensi transfusi	Jumlah pemberian transfusi dalam kurun waktu satu bulan	Observasi	Data rekam medik	- ≤ 2 kali dalam satu bulan - > 2 kali dalam satu bulan	Nominal
3.	Kadar Feritin	Kadar feritin pada pasien talasemia mayor	Pemeriksaan laboratorium	ELISA Reader	ng/ml	Ratio

E. Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini berupa data primer dan data sekunder. Data primer yaitu hasil pemeriksaan kadar feritin pasien talasemia di RS. Dr. H. Abdul Moeloek. Data sekunder diperoleh dari data rekam medik pasien talasemia yang melakukan terapi transfusi darah di RS. Dr. H. Abdul Moeloek.

1. Prosedur Penelitian

- a) Melakukan pra survey pada lokasi penelitian yaitu RS. Dr. H. Abdul Moeloek
- b) Mengajukan surat izin penelitian ke Direktorat Politeknik Kesehatan Tangkarang untuk selanjutnya diteruskan ke bagian diklat RS. Dr. H. Abdul Moeloek
- c) Setelah mendapatkan izin dari pihak RS. Dr. H. Abdul Moeloek, peneliti dapat melakukan penelitian terhadap pasien yang terdiagnosa oleh dokter menderita talasemia dan melihat frekuensi transfusi kemudian melakukan pemeriksaan kadar feritin di laboratorium.
- d) Peneliti menjelaskan informed consent kepada pasien dan wali pasien, jika pasien bersedia menjadi responden, maka pasien diminta untuk mengisi informed consent.

- e) Peneliti melakukan pengambilan sampel darah pasien dan melakukan pemeriksaan kadar feritin dengan menggunakan alat ELISA Reader di laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Prosedur Pemeriksaan Feritin

a) Metode Pemeriksaan

Metode yang digunakan dalam menghitung kadar feritin adalah dengan metode sandwich ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) dengan alat Elisa Reader.

b) Prinsip Pemeriksaan

Antibodi dengan affinity dan spesifitas tinggi terhadap feritin (antiferitin igG) akan berikatan dengan serum yang mengandung antigen asli dan membentuk kompleks antibodi-antigen. Biotin yang menempel pada antibodi akan berikatan dengan streptavidin yang dilapisi pada microplate. Setelah masa inkubasi, antigen-antibodi yang tidak terikat dipisahkan dengan cara aspirasi. Ditambahkan enzim berlabel ke antibodi lain sehingga membentuk enzim berlabel antibodi-antigen-biotinylated-antibodi kompleks pada permukaan well. Kemudian dilakukan pencucian untuk menghilangkan enzim berlebih, dan ditambahkan substrat untuk membentuk warna lalu diukur pada alat elisa reader.

c) Prosedur pemeriksaan

- 1) Beri tanda pada well mikroplate yang akan digunakan sebagai standar, control, dan sampel.
- 2) Pipet 25ul standar, control, dan sampel dan masukan kedalam well.
- 3) Tambahkan 100ul reagen feritin biotin ke setiap sumur.
- 4) Homogenkan dengan cara menutup well dan memutar plate perlahan selama 20-30 detik.
- 5) Inkubasi 30 menit pada suhu ruang
- 6) Buang isi plate dengan cara dekantasi
- 7) Tambahkan 350ul wash buffer dan lakukan pencucian sebanyak 3 kali

- 8) Tambahkan 100ul enzim konjugat feritin ke setiap well.
- 9) Inkubasi 30 menit pada suhu ruang.
- 10) Buang isi plate dengan cara dekantasi.
- 11) Lakukan pencucian dengan wash buffer sebanyak 3 kali.
- 12) Tambahkan 100ul working substrat solution ke semua plate
- 13) Inkubasi pada suhu kamar selama 15 menit
- 14) Tambahkan 50ul stop solution dan homogenkan selama 15-20 detik.
- 15) Baca absorban pada alat elisa reader. Hasil harus dibaca dalam waktu 30 menit setelah menambahkan stop solution.

d) Nilai Normal

Laki-laki	:	16-220 ng/ml
Wanita	:	10-124 ng/ml
Bayi baru lahir	:	22-220 ng/ml
Anak-anak	:	10-160 ng/ml

F. Pengolahan dan Analisis Data

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

1. Editing

Penulis melakukan pengecekan terhadap data yang di peroleh kemudian memastikan tidak ada kekeliruan dalam pengisian.

2. Coding

Pada tahap ini dilakukan proses mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan

Coding kelompok sampel:

1 = Kelompok frekuensi transfusi <2 kali dalam satu bulan

2 = Kelompok frekuensi transfusi ≥ 2 kali dalam satu bulan

3. Memasukkan data (Data Entry) atau Processing

Data yang telah dicoding selanjutnya dimasukkan ke dalam program atau *software* computer. Berdasarkan analisis serta pemilihan data maka peneliti memutuskan menggunakan program SPSS.

4. Cleaning

Proses ini merupakan kegiatan pengecekan kembali data yang sudah di entry, hal tersebut untuk melihat ada atau tidaknya kemungkinan kesalahan memasukan data.

Selanjutnya data yang terkumpul di analisis dengan cara:

1. Analisa Univariat

Analisa ini digunakan untuk melihat distribusi frekuensi pada masing-masing variabel penelitian.

2. Analisa Bivariat

Analisa ini digunakan untuk melihat perbandingan kadar feritin berdasarkan frekuensi transfusi pada pasien talasemia di RS. Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung. Data yang didapatkan dianalisis dengan uji *T-test independent* untuk menguji hipotesis antara variabel bebas dengan variabel terikat.

G. Ethical Clearence

Penelitian ini menggunakan manusia sebagai subyek 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 diberi penjelasan mengenai tujuan dan prosedur penelitian serta diminta persetujuan dengan informed consent. Pengambilan sampel darah vena dilakukan sesuai dengan standar operasional prosedur yang berlaku. Dalam proses pengambilan darah terdapat kemungkinan terjadinya hematoma yang dapat ditangani dengan melakukan pengompresan dengan air hangat. Subyek berhak menolak untuk ikut serta tanpa konsekuensi apapun. Identitas subyek penelitian ini dirahasiakan. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti.