

BAB III

METODEOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif. Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar *procalcitonin* (PCT) pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan dan tuberkulosis paru *multidrug resistant* (MDR) pengobatan lini pertama di Puskesmas Kedaton dan RSUD dr.H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di RSUD dr.H. Abdoel Moeloek, Puskesmas Kedaton, dan laboratorium imunoserologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei-Juni tahun 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah pasien tuberkulosis paru *multi drug resistant* pengobatan lini pertama di RSUD dr.H. Abdul Moeloek dan pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan di Puskesmas Kedaton.

2. Sampel

Sampel terdiri dari pasien tuberkulosis paru *multidrug resistant* (MDR) pengobatan lini pertama dan pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan Untuk menentukan jumlah sampel minimum pada penelitian ini menggunakan rumus slovin sebagai berikut :

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

Keterangan:

n: Sampel minimum

N: Jumlah populasi

e: Persentase batas toleransi (*margin of error*)

Perhitungan besar sampel penderita tuberkulosis di RSUD dr.H.Abdul Moeloek dan Puskesmas Kedaton dengan populasi periode Januari-Maret menggunakan rumus slovin dengan *margin of error* 0,05 (95%) adalah 41 pasien tuberkulosis *multidrug resistant* pengobatan lini pertama dan 51 pasien tuberkulosis dalam pengobatan 6 bulan. Namun, dikarenakan keterbatasan peneliti, maka besar sampel yang akan diambil adalah 15 pasien tuberkulosis dalam pengobatan 6 bulan dan 15 pasien tuberkulosis *multidrug resistant* pengobatan lini pertama. Meskipun begitu, besar sampel tersebut sudah memenuhi syarat minimum sampel pada Uji T.

Purposive sampling dilakukan dengan mengambil semua subjek yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

1. Kriteria Subjek

- 1) Pasien tuberkulosis yang sedang dalam masa pengobatan 1-6 bulan yang berobat di Puskesmas Kedaton dari bulan Januari sampai Mei 2025 yang menyetujui *informed concent*.
- 2) Pasien tuberkulosis *multidrug resistant* (MDR) dalam pengobatan lini pertama di RSUD dr.H.Abdul Moeloek dari bulan Januari sampai Mei 2025 yang menyetujui *informed concent*.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan	Pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan di Puskesmas Kedaton	Observasi	Rekam medik	15	Rasio
Pasien tuberkulosis paru multidrug resistant (MDR)	Pasien tuberkulosis paru yang terdata multi drug resistant pengobatan lini pertama di RSUD dr.H.Abdoel Moeloek.	Observasi	Rekam medik	15	Rasio
Kadar procalcitonin (PCT)	Kadar PCT dari pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan di Puskesmas Kedaton dan pasien tuberkulosis paru MDR pengobatan lini pertama di RSUD dr.H.Abdul Moeloek.	Enzimatik	ELISA reader	≤0,5 ng/ml	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

Data yang diambil pada penelitian ini merupakan data primer dan skunder. Data primer diperoleh pada saat melakukan pemeriksaan kadar *procalcitonin* penderita tuberkulosis paru dalam pengobatan 1-6 bulan dan tuberkulosis MDR dalam pengobatan lini pertama di Puskesmas Kedaton dan RSUD dr.H.Abdul Moeloek Provinsi Lampung. Data skunder diperoleh dari data rekam medik pasien di RSUD dr. H. Abdul Moeloek dan Puskesmas Kedaton. Data diperoleh dengan cara dan prosedur, antara lain:

1. Mencari sumber pustaka untuk memperoleh data-data ilmiah dan teoritis terkait penelitian.
2. Melakukan pra survey pada lokasi pengambilan sampel pasien TB paru dalam pengobatan 6 bulan di Puskesmas Kedaton dan pasien TB paru MDR pengobatan lini pertama di RSUD dr.H.Abdul Moeloek

3. Melakukan pengajuan surat izin penelitian terhadap direktur Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
4. Setelah memperoleh surat izin penelitian, melakukan pengambilan sampel pada pasien tuberkulosis sesuai kriteria. Lalu dilakukan pemeriksaan kadar *procalcitonin* (PCT) dengan menggunakan alat *ELISA Reader* di Laboratorium Imunoserologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
5. Peneliti memberi penjelasan mengenai informed consent pasien dan wali pasien dan diminta untuk mengisi informed consent jika mereka bersedia menjadi responden.
6. Nama dan keterangan kriteria pasien tuberkulosis diambil dari data rekam medik pasien oleh peneliti.
7. Peneliti melakukan pengambilan darah vena pasien dan mengambil serumnya lalu menyimpan serum pasien di refrigerator -20°C hingga jumlah sampel terpenuhi.
8. Melakukan pemeriksaan kadar *procalcitonin* menggunakan *ELISA Reader* di laboratorium imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
9. Cara kerja pemeriksaan *procalcitonin* (PCT)
 - a. Alat: *ELISA*, *micro ELISA plate*, mikropipet, *waterbath*, *centrifuge*.
 - b. Bahan: *Reference Standard*, *Concentrated Biotinylated*, *Detection Antibody (Ab)*, *Contentrated HRP Conjugate*, *Refrence Standard* dan *Sample Diluent*, *Biotinylated Detection Ab Diluent*, *HRP Conjugate Diluent*, *Concentrated Wash Buffer*, *Substrate Reagent*, *Stop Solution*, dan *Plate Sealer*.
 - c. Persiapan Reagen:
 - 1) Simpan reagen di suhu 2-8°C sebelum dipakai. Jika reagen akan dipakai lebih dari 6 bulan, simpan pada suhu -20°C. Jika kit tidak langsung habis dalam satu kali pakai, hanya keluarkan reagen yang diperlukan untuk satu kali running, dan simpan reagen yang tersisa.
 - d. *Washing Buffer*: larutkan 20 ml *washing buffer* pekat dalam 480 ml *aquades* untuk menghasilkan 500 ml *washing buffer*. Homogenkan.

e. Standar working solution: sentrifugasi standar dengan kecepatan $10.000\times g$ selama 60 detik. Masukkan 1 ml Reference Standar dan Sample Diluent, tunggu 10 menit lalu homogenkan. Setelah homogen, aduk menggunakan pipet. Rekonstitusi ini menghasilkan 2000 pg/ml working solution. Lakukan serial pengenceran secara bertahap sesuai keperluan. Berikut adalah hasil pengenceran yang disarankan: 2400, 1200, 600, 300, 150, 75 dan 0 pg/ml. Langkah-langkah pengenceran: ambil 7 tabung EP, pipet 500 μ L Reference Standar dan Sample Diluent ke tiap tabung. Pipet 500 μ L larutan kerja 2400 pg/ml ke tabung pertama. Aduk larutan sampai menjadi working solution 1200 pg/ml. Pipet 500 μ L larutan dari tabung sebelumnya sampai tabung terakhir. Lakukan tahap ini hingga tabung 75 pg/ml. Biarkan tabung terakhir kosong, dan jangan memindahkan larutan dari tabung sebelumnya ke dalamnya.

f. Prosedur Kerja:

- 1) Siapkan well untuk standar dan blanko yang ingin digunakan. Pipet 50 μ L dari setiap standar dan blanko. Lalu masukkan ke masing-masing well. Setelah itu pipet 40 μ L sampel kemudian masukkan ke semua well sampel. Pipet juga 10 μ L antibody PCT ke semua well. Pipet lagi streptavidin HRP ke semua well standar dan sampel. Kemudian tutup menggunakan sealer yang telah disediakan. Inkubasi 37°C selama 60 menit.
- 2) Buang cairan dari tiap well. Pipet 300 μ L Washing Buffer ke tiap well. Tunggu 30 detik – 1 menit lalu buang cairan dari masing-masing well. Ketuk perlahan sampai kering menggunakan kertas serap yang bersih dan kering. Prosedur ini dilakukan sebanyak 5 kali.
- 3) Pipet 50 μ L A solution dan B solution ke tiap well. Kemudian tutup menggunakan penutup yang telah disediakan. Inkubasi 37°C selama 10 menit.
- 4) Pipet 50 μ L Stop Solution ke tiap well, terjadi perubahan warna dari biru ke kuning.
- 5) Baca di ELISA Reader dengan panjang gelombang 450 nm.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Proses olah data dilakukan setelah data terkumpul dan didasarkan hasil pengamatan dengan tahap-tahap sebagai berikut:

- a. *Editing Data*, yaitu saat penulis melakukan penelitian terhadap data yang diperoleh yaitu kadar procalcitonin pasien tuberkulosis paru dalam pengobatan 6 bulan dan pasien tuberkulosis paru *multi drug resistant* (MDR) pengobatan lini pertama lalu melihat adanya kekeliruan atau tidak dalam data tersebut.
- b. *Coding*, merupakan tahap dimana data yang telah didapat diubah menjadi code dalam program analisa data. Kadar procalcitonin pada pasien TB dalam pengobatan 6 bulan = 1, kadar procalcitonin pada pasien TB MDR pengobatan lini pertama = 2.
- c. *Entry Data*, yaitu data kadar procalcitonin yang telah dicoding kemudian diolah menggunakan komputer agar dapat dianalisa. Pada penelitian ini entry data menggunakan program SPSS for Windows versi 26.
- d. *Procesing Data*, merupakan langkah di mana data dari check list diketikkan ke dalam program SPSS untuk kemudian dapat dianalisa menggunakan *independent t-test*.
- e. *Cleaning Data*, tahap pemeriksaan ulang data yang telah dimasukkan untuk memastikan kembali apakah terdapat kesalahan saat memasukkan data tersebut.

2. Analisa Data

a. Analisa univariat

Untuk mengetahui distribusi frekuensi pada masing-masing variabel seperti nilai mean, median, maksimum, dan minimum. Dalam penelitian ini variabel, yang akan dianalisa yaitu kadar PCT pada penderita tuberkulosis dalam pengobatan 6 bulan dan tuberkulosis *multi drug resistant* (MDR).

b. Analisa bivariat

Analisa bivariat menggunakan uji *independent T-Test* untuk membandingkan kadar PCT pada penderita tuberkulosis paru dalam

pengobatan 6 bulan dan pasien TB MDR (*multi drug resistant*) dalam pengobatan lini pertama.

G. Ethical Clearance

Penelitian ini melibatkan subjek manusia dengan darah vena sebagai sampel pemeriksaan. Oleh karena itu untuk menilai kelayakannya, proposal harus diserahkan ke Komisi Etik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk dilakukan telaah. Tujuan penelitian, prosedur, dan penjelasan diberikan kepada setiap subjek penelitian. Selain itu, responden diminta untuk memberikan persetujuan yang jelas dengan mengisi *informed consent*. Sampel darah vena diambil sesuai SOP. Jika terjadi hematoma setelah proses pengambilan darah, pengompresan air hangat dapat membantu. Subjek dapat menolak berpartisipasi tanpa konsekuensi. Identitas subjek penelitian tidak akan diungkapkan. Seluruh biaya yang diperlukan dalam penelitian ini akan ditanggung sepenuhnya oleh peneliti.