

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian analitik ini memiliki desain cross-sectional. Pada penelitian ini, variabel bebas adalah pasien diabetes melitus tipe 2 dengan ulkus diabetikum, bersama dengan variabel terikatnya, yaitu jumlah trombosit dan kadar TNF- $\alpha$ .

#### **B. Lokasi dan waktu penelitian**

1. Tempat penelitian

Rumah Sakit Umum Daerah H. Abdul Moeloek di Provinsi Lampung adalah lokasi awal pengambilan sampel untuk penelitian ini.

2. Waktu penelitian

Studi ini dilakukan dari bulan April hingga Mei 2025.

#### **C. Populasi dan sampel**

1. Populasi

Penelitian ini melibatkan 30 pasien diabetes tipe 2 dengan ulkus diabetikum di RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung pada tahun 2025.

2. Sampel

Metode purposive sampling digunakan untuk mengumpulkan sampel dari populasi dalam penelitian ini sebanyak 30 pasien. Semua subjek yang memenuhi kriteria dipilih untuk dilakukan.

a. Kriteria inklusi

Pasien Diabetes melitus tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum

b. Kriteria eksklusi

Pasien diabetes melitus tipe 2 yang sedang menderita penyakit lain (seperti: leukemia/kanker darah, tuberculosis paru, penyakit lupus atau rheumatoid arthritis, demam typhoid, malaria dan penyakit lainnya yang berhubungan dengan infeksi dan inflamasi).

## D. Variable dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Variabel dan definisi operasional.

No.	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
1	Pasien DM tipe 2	Pasien DM tipe-2 yang mengalami ulkus diabetikum yang berobat di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Observasi	Data rekam medik	Jumlah pasien DM tipe-2	Nominal
2	Jumlah Trombosit	Jumlah trombosit pada pasien DM tipe-2 yang mengalami ulkus diabetikum di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Observasi	Data rekam medik	Sel/ $\mu$ L darah	Ratio
3	Kadar TNF- $\alpha$	Kadar TNF- $\alpha$ pada pasien DM tipe-2 yang mengalami ulkus diabetikum di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Metode Sandwich	ELISA	ng/l	Ratio

## E. Pengumpulan data

Kedua data primer dan sekunder digunakan dalam penelitian ini. Data utama berasal dari pemeriksaan TNF- $\alpha$  pada pasien dengan ulkus diabetikum tipe 2. Data sekunder diperoleh dari data rekam medik pasien DM tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum yang melakukan pemeriksaan darah lengkap untuk memenuhi karakteristik responden dan hitung jumlah trombosit. Data yang dikumpulkan untuk penelitian ini dikumpulkan menggunakan langkah-langkah berikut.

1. Peneliti melakukan pra-survei terlebih dahulu dan membuat proposal penelitian
2. Mengajukan persetujuan kaji etik dari tim komisi etik penelitian Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Politeknik Kesehatan TanjungKarang
3. Setelah mendapatkan persetujuan kaji etik, peneliti mengajukan surat izin penelitian kepada Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang

4. Setelah mendapatkan perizinan dari Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Peneliti mengajukan surat izin penelitian untuk divisi Pelatihan RSUD dr.h.Abdul Moeloek Provinsi Lampung.
5. Setelah disetujui oleh Direktur Diklat RSUD dr.h.Abdul Moeloek, peneliti akan mendapatkan surat pengantar dan surat balasan untuk rekam laboratorium dan medik untuk diserahkan kepada kepala ruang.
6. Sebagai data sekunder, peneliti mengambil nama, nomor rekam medik, dan hasil pemeriksaan jumlah trombosit dari rekam medik pasien.
7. Selanjutnya peneliti mencari pasien yang memenuhi kriteria inklusi untuk memberikan informed consent sebelum melakukan pemeriksaan
8. Setelah mendapatkan persetujuan dari responden penelitian, peneliti melakukan pengambilan sampel.
9. Prinsip pengujian :

Kit ini adalah (ELISA), dengan sumur plat yang sudah dilapisi dengan antibodi Human TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  yang ada didalam sampel 1 ditambahkan dan mengikat antibodi, Kemudian Streptavidin-HRP ditambahkan dan mengikat antibodi Human TNF- $\alpha$  yang terbiotinilasi setelah inklubasi, Streptavidin-HRV yang tidak terikat dicuci, lalu larutan Substrat ditambahkan dan warna berkembang sebanding dengan jumlah Human TNF- $\alpha$ , reaksi dihentikan dengan penambahan stop solution dan absorbansi diukur pada 450 nm.
10. Cara kerja pemeriksaan TNF- $\alpha$ 
  - a. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk, biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan.
  - b. Tentukan jumlah well yang diperlukan untuk pengujian, well yang tidak digunakan harus disimpan di suhu 2-8°C.
  - c. Tambahkan 50  $\mu$ l standar ke dalam sumur standar.
  - d. Tambahkan 40  $\mu$ l sampel 1 kedalam sumur sampel, lalu tambahkan 10  $\mu$ l antibodi anti TNF- $\alpha$  kedalam sumur sampel lalu tambahkan 50  $\mu$ l streptavidin-HRP kedalam sumur sampel

dan sumur standar homogenkan, tutup setiap sumur dengan sealer. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C

- e. Lepaskan sealer dan cuci pelat 5 kali dengan cairan pembersih, Rendam sumur dengan cairan pembersih 300 µl selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, tuang setiap sumur dan cuci 5 kali dengan cairan pembersih, keringkan plat dengan tisu atau penyerap lainnya
- f. Tambahkan 50 µl larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan larutan substrat B ke setiap sumur, inkubasi pelat yang dtutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37 °C dalam keiiadaan gelap.
- g. Tambahkan 50 µl stop solution ke setiap sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
- h. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur segera menggunakan pembaca mikroplat yang diatur 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.

## **F. Pengolahan dan analisis data**

### **1. Pengolahan data**

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program komputerisasi,

Langkah Langkah pengolahan data dilakukan sebagai berikut:

- a. Editing, yaitu melakukan kajian dan penjelasan terhadap partisipan yang memenuhi kriteria masuk dan keluar selama penelitian sehingga kemungkinan terjadinya bias informasi dan bias seleksi sangat kecil.
- b. Coding, yaitu memberikan kode pada setiap variabel untuk memudahkan proses entri data.
- c. Entry, yaitu entri data untuk dianalisis statistik. Proses entri data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak analisis data (Grapeth).
- d. Cleaning, yaitu peneliti memeriksa kembali kelengkapan data yang dimasukkan ke dalam komputer. Jika ada data tidak terisi lengkap, maka data tidak akan dianalisis lebih lanjut.

## 2. Analisis data

Data yang diperoleh adalah :

### a. Analisis Univariat

Analisa ini digunakan untuk melihat distribusi jumlah trombosit dan kadar TNF- $\alpha$  pada pasien diabetes melitus tipe 2 yang mengalami ulkus

### b. Analisis Bivariat

Analisa ini digunakan untuk mengamati hubungan jumlah trombosit dengan kadar TNF- $\alpha$  pada pasien diabetes tipe 2 dengan ulkus diabetikum menggunakan uji *Pearson Correlation* dengan catatan data terdistribusi normal. Peneliti menggunakan uji *spearman correlation* jika data tidak terdistribusi normal

## **G. Ethical Clearance**

Untuk menilai validitas penelitian ini, yang menggunakan sampel darah vena manusia, komite etik Poltekkes Tanjungkarang harus melakukan tinjauan etik. Setelah persetujuan tertulis diminta, setiap subjek diberikan penjelasan tentang tujuan penelitian dan langkah-langkah yang akan diambil untuk menyelesaikannya. Pengambilan darah dari vena dilakukan sesuai dengan petunjuk operasi umum. Subyek berhak untuk menolak tanpa konsekuensi. Identitas subjek tetap rahasia.