

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian analitik dengan desain penelitian *cross-sectional*. Variabel dependen adalah kadar trigliserida pada ODHIV, sedangkan variabel independen adalah kadar betatrophin pada ODHIV.

Pengukuran dan pengamatan dilakukan pada saat yang sama dan waktu yang bersamaan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi pada penelitian ini adalah ODHIV di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.
2. Sampel pada penelitian ini adalah ODHIV dengan terapi ARV regimen tenofovir, lamivudine, dan dolutegravir. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari seluruh populasi yang memenuhi kriteria sebagai berikut:
 - a. Kriteria Inklusi
 - 1) ODHIV yang menjalani terapi tenofovir, lamivudine, dan dolutegravir lebih dari 3 tahun secara rutin.
 - 2) Berusia ≥ 18 tahun.
 - 3) Bersedia menjadi responden penelitian.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1. Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Variabel	Betatrophin merupakan bebas: kadar <i>biomarker</i> yang dapat betatrophin digunakan sebagai prediktor independen kejadian resistensi insulin. Selain sebagai prediktor, penggunaan <i>biomarker</i> ini juga berfungsi untuk melihat perkembangan diabetes di masa depan, tingkat keparahan diabetes, serta komplikasinya.	ELISA	Sandwich assay	ng/mL	Rasio
2	Variabel terikat: kadar triglycerida	Triglicerida adalah komponen utama dari <i>dietary fat</i> (lemak yang berasal dari makanan). Setelah dikonsumsi, triglycerida melalui hidrolisis oleh enzim lipase di usus, membentuk asam lemak dan monoglycerida.	Spektro fotometer Biosistem BA200	Enzimatis Kolorimeteri (GPO-PAP)	mg/dL	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer dan sekunder. Data tersebut diperoleh menggunakan prosedur antara lain:

1. Penulis melakukan penelusuran pustaka terkait HIV, betatrophin, dan triglycerida.
2. Melakukan survey pada lokasi penelitian di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.
3. Surat izin penelitian diajukan ke Direktorat Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, kemudian diteruskan kepada Dinas Kesehatan Kota

Bandar Lampung lalu ke Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.

4. Setelah mendapat surat izin penelitian, penulis melakukan penelusuran terkait status pasien.
5. Meminta izin kepada pasien atau keluarga pasien untuk ikut serta dalam penelitian ini dengan memberikan *informed consent* dan menandatanganinya. Pasien juga mengisi lembar kuisioner.
6. Melakukan pengambilan data primer dan pemeriksaan kadar betatrophin dan kadar trigliserida di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung, Laboratorium Imunoserologi Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, dan Laboratorium PK RS Bintang Amin. Pengambilan data sekunder berupa rekam medis responden di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.
7. Kemudian spesimen diperiksa menggunakan instrumen ELISA dan fotometer.
 - a. Pengambilan Spesimen Darah
 - 1) Alat
Alat yang digunakan adalah peralatan ETS (*Evacuated Tube System*), *tourniquet*, tabung darah EDTA.
 - 2) Bahan
Bahan pemeriksannya adalah 70% isopropil alkohol, *handscoon*, wadah limbah dan kantong pengangkat *biohazard*.
 - 3) Prosedur Kerja
 - a) Identifikasi pasien dengan menanyakan nama depan dan belakang.
 - b) Mempersiapkan alat dan bahan dan mengenakan APD.
 - c) Minta pasien untuk menggenggam.
 - d) Pasang *tourniquet* 8-10 cm di atas titik pungsi vena.
 - e) Palpasi area pengambilan dengan jari telunjuk tangan untuk menentukan letak vena dan menentukan kedalaman, arah, dan ukuran.

- f) Lepaskan *tourniquet*.
 - g) Bersihkan daerah penusukan dengan 70% isopropil alkohol dengan gerakan memutar.
 - h) Pasang peralatan ETS saat menunggu alkohol mengering.
 - i) Gunakan kembali *tourniquet*.
 - j) Lepaskan sumbat jarum plastik dan periksa kecacatan jarum.
 - k) Tusukkan jarum secara perlahan ke dalam vena dengan sudut kemiringan 15-30 derajat ke atas sampai terasa tekanannya berkurang.
 - l) Dengan menggunakan ibu jari, masukkan tabung ke belakang jarum tabung pemindah, sambil jari telunjuk dan jari tengah memegang ujung lebar pegangan.
 - m) Saat darah mengalir ke dalam tabung, lepaskan *tourniquet* dan minta pasien untuk membuka genggaman tangan.
 - n) Lepaskan tabung dengan perlahan saat darah berhenti mengalir ke dalamnya.
 - o) Homogenkan tabung tiga hingga delapan kali, segera setelah tabung tersebut dilepaskan dari pegangannya.
 - p) Tutup titik pungsi vena tersebut dengan kasa bersih.
 - q) Lepaskan jarum secara perlahan dan tekan bagian penusukan jarum itu.
 - r) Tutup jarum dan buang jarum dan komponen pegangannya ke dalam wadah limbah benda tajam.
 - s) Beri label pada tabung dan konfirmasi kembali identitas.
- b. Prosedur Pemeriksaan ELISA
- 1) Alat
- Alat pemeriksaan yang digunakan yaitu ELISA *Reader & Washer*.
- 2) Bahan
- Bahan pemeriksaan yang digunakan adalah serum/plasma dan betatrophin reagen *kit*.

3) Prinsip

Pemeriksaan ini didasarkan pada teknologi ELISA *Sandwich*. Antibodi penangkap telah dilapisi pada *plate* dengan 48 *well*. Antibodi terkonjugasi biotin digunakan sebagai antibodi pendekripsi. Standar, sampel uji, dan antibodi pendekripsi terkonjugasi biotin kemudian ditambahkan ke dalam *well*, dan dicuci dengan *wash buffer*. HRP-Streptavidin ditambahkan dan konjugat yang tidak terikat dicuci dengan *wash buffer*. Substrat TMB digunakan untuk memvisualisasikan reaksi enzimatik HRP. TMB dikatalisis oleh HRP menghasilkan produk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah ditambahkan *stop solution* yang bersifat asam. Kepadatan warna kuning sebanding dengan jumlah target sampel yang ditangkap di *plate*. Lalu O.D. serapan dibaca pada 450nm dalam *microplate reader*, dan kemudian konsentrasi target dapat dihitung.

c. Spektrofotometer

1) Alat

Alat yang digunakan yaitu *Biosystem BA200*.

2) Bahan

Bahan pemeriksaan yang digunakan adalah serum dan reagen trigliserida.

3) Prinsip

Penentuan trigliserida berdasarkan reaksi enzimatik berurutan, di mana trigliserida dalam sampel dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Gliserol kemudian difosforilasi dan dioksidasi, menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). H_2O_2 selanjutnya bereaksi dengan substrat kromogenik dalam reaksi yang dikatalisis oleh peroksidase, membentuk senyawa berwarna. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar

trigliserida dalam sampel, dan diukur secara fotometrik pada panjang gelombang 500–550 nm.

F. Analisa Data

1. Pengolahan data

Pada tahap ini data diolah oleh peneliti. Setelah data telah terkumpul, data diolah dengan program komputer sebagai berikut:

a. Memasukkan data

Penulis memasukkan data yang diperoleh berupa data yaitu kadar betatrophin dan kadar trigliserida ke dalam program *Graphpad Prism*.

b. Coding

Penulis melakukan proses pengubahan data yang semula berupa kalimat atau huruf diubah menjadi bilangan atau angka. Penulis memberikan kode pada variabel.

c. Cleaning

Penulis melakukan pengecekan kembali pada data yang telah dientri untuk memimalisir kesalahan saat memasukkan data.

2. Analisa Data

Data yang telah terkumpul kemudian dilakukan analisis univariat dan bivariat sebagai berikut:

a. Analisis Univariat

Analisis uji univariat dilakukan untuk mengetahui masing-masing distribusi frekuensi pada setiap variabel sebagai data dasar karakteristik subjek penelitian.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan antara kadar betatrophin terhadap trigliserida pada ODHIV dengan ART Regimen TLD yaitu dengan menggunakan uji bivariat yaitu uji korelasi *Spearman's Rank* apabila data tidak berdistribusi normal, dan uji korelasi *Pearson* apabila data berdistribusi normal.

G. Ethical Clearance

Subjek penelitian ini adalah manusia sehingga perlu dilakukan penelusuran etik dengan memberikan naskah proposal pada Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang. Responden dalam penelitian ini diberikan penjelasan berupa *informed consent* tentang tujuan penelitian secara lisan maupun tertulis. Responden memiliki hak untuk menolak menjadi responden dan tidak diberikan sanksi apapun. Identitas responden penelitian dirahasiakan. Keterangan layak etik diperoleh dengan nomor surat 040/KEPK-TJK/III/2025.