

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode kuantitatif dengan rancangan desain *cross sectional*. Variabel penelitian terdiri dari variabel bebas yaitu pengobatan ARV dan variabel terikatnya yaitu kadar lemak subkutan dan visceral serta kadar TNF- $\alpha$

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

###### **1. Lokasi penelitian**

Lokasi pengambilan sampel untuk penelitian ini dilakukan di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi, Bandar Lampung, kemudian dilakukan pemeriksaan sampel di Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang.

###### **2. Waktu penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April-Mei 2025.

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

###### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 44 pasien ODHIV yang telah melakukan terapi ARV dengan menggunakan pengobatan Rejimen TLD (Tenovir, Lamivudine, Dolutegravir).

###### **2. Sampel**

Sampel pada penelitian ini berjumlah 30, diambil dengan metode *purposive sampling* dimana sampel diambil berdasarkan kriteria yang telah ditentukan sebelumnya.

###### **a. Kriteria inklusi :**

- 1). Pasien yang di diagnosis HIV dengan usia >18 tahun
- 2). Pasien yang menjalani terapi ARV jangka waktu >3 tahun
- 3). Pasien dengan pengobatan ARV Rejimen TLD (Tenovir, Lamivudine, Dolutegravir)

###### **b. Kriteria eksklusi**

- 1) Pasien dengan jangka waktu pengobatan <3 tahun

- 2) Pasien dengan terapi ARV dengan Rejimen TLE (Tenovir, Lamivudi, Efavirenz)
- 3) Pasien dengan penyakit oportunistik
- 4) Pasien dengan penyakit metabolik

#### D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Pengobatan ARV TLD	Pasien HIV yang sudah melakukan terapi ARV dengan obat TLD di Puskesmas Sukabumi, Bandar Lampung	Observasi	Data rekam medik	Jumlah pasien HIV	Nominal
2	Kadar lemak subkutan dan visceral	Kadar lemak subkutan dan visceral pada pasien HIV di Puskesmas Sukabumi, Bandar Lampung	BIA	OMRON Karada Scan	%	Ratio
3	Kadar TNF- $\alpha$	Kadar TNF- $\alpha$ pada pasien HIV di Puskesmas Sukabumi, Bandar Lampung	Metode Sandwich	ELISA	ng/ml	Ratio

#### E. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, data yang digunakan adalah data primer dan data sekunder. Data primer diperoleh dengan melakukan pemeriksaan langsung pada pasien HIV yang telah terapi Obat *Antiretroviral* (ARV) serta pemeriksaan kadar lemak subkutan dan visceral dengan alat BMI dan pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dengan Elisa. Data sekunder diperoleh dari data rekam medis untuk mengetahui pasien yang terapi Obat *Antiretroviral* (ARV). Penelitian ini mengajukan surat permohonan izin ke Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung untuk melakukan penelitian. Data yang diambil ada 2 yaitu :

1. Data primer

Metode pengumpulan data yang langsung dilakukan oleh peneliti melalui pemeriksaan kadar lemak subkutan dan visceral serta kadar TNF- $\alpha$  pada pasien HIV yang melakukan terapi obat *Antiretroviral* (ARV).

2. Data sekunder

Metode yang digunakan untuk memperoleh informasi pasien HIV yang melakukan pengobatan terapi obat *Antiretroviral* (ARV).

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan Langkah-langkah sebagai berikut :

1. Peneliti melakukan pra survey lokasi penelitian di Puskesmas Sukabumi, Bandar Lampung 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 menyerahkan surat izin penelitian kepada bagian Diklat Puskesmas Sukabumi, Bandar Lampung.
5. Setelah disetujui oleh Direktur Diklat Puskesmas Sukabumi, peneliti akan mendapatkan surat balasan dan surat pengantar ke Rekam Medik dan Laboratorium untuk diserahkan kepada kepala ruangan.
6. Peneliti melakukan pengambilan data pasien pada rekam medik berdasarkan nama, nomor rekam medik, dan data hasil pemeriksaan pasien HIV sebagai data sekunder.
7. Selanjutnya peneliti mencari pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi untuk memberikan *informed consent* sebelum melakukan pemeriksaan.
8. Setelah mendapatkan persetujuan dari responden penelitian, peneliti melakukan pengambilan sampel.

Cara kerja pemeriksaan TNF- $\alpha$  :

Alat :

1. *Incubator*

2. *Micropipet*
3. *Elisa wash*
4. *Elisa*

Bahan :

1. *Standar Solution*
2. Lautan Substrat A
3. Larutan Substrat B
4. *Stop Solution*
5. *Wash Buffer*
6. Standar Diluent
7. Tip
8. *Tissue*
9. Botol disinfektan
10. Well
11. Streptavidin-HRP

Prinsip Pengujian :

Kit ini adalah (ELISA), dengan sumur Plat yang sudah dilapisi dengan antibodi Human TNF-  $\alpha$ , TNF-  $\alpha$  yang ada didalam sampel 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.

Prosedur Pengujian :

1. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sample sesuai petunjuk, biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan.
2. Tentukan jumlah wall yang diperlukan untuk pengujian, well yang tidak digunakan harus disimpan di suhu 2-8°C.
3. Tambahkan 50  $\mu$ l standar ke dalam sumur standar.
4. Tambahkan 40  $\mu$ l sampel kedalam sumur sampel, lalu tambahkan 10  $\mu$ l antibodi anti TNF- $\alpha$  kedalam sumur sample lalu tambahkan 50  $\mu$ l

streptavidin-HRP kedalam sumur sample dan sumur standar homogenkan, tutup setiap sumur dengan sealer. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C

5. 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
6. Tambahkan 50 µl larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan larutan substrat B ke setiap sumur, inkubasi pelat yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37 °C dalam keadaan gelap.
7. Tambahkan 50 µl stop solution ke setiap sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
8. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur segera menggunakan pembaca mikroplat yang diatur 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.

Cara kerja OMRON Karada Scan :

Setting Waktu :

1. Tekan tombol *On/Off* untuk menyalakan
2. Tekan tombol ini untuk memilih tahun
3. Tekan tombol ini untuk men-set
4. Setelah tahun, akan berganti ke setting "bulan" dan "tanggal". (Ulangi langkah no.2 dan no.3 di atas.)

Setting Data Personal :

1. Nyalakan unit. Setelah menampilkan tahun, bulan dan tanggal (Bulan Hari) akan muncul "0.00 Kg"
2. Tekan tombol Nomor *Personal File* untuk menyimpan informasi diri.
3. Kemudian akan muncul angka berkedip, angka ini menunjukkan "tahun" kelahiran
4. Masukkan data tahun, bulan, tanggal kelahiran.
5. Tekan tombol ini untuk konfirmasi *setting*.
6. Pilih jenis kelamin

7. Tekan tombol ini untuk konfirmasi *setting*.
8. Masukkan data tinggi (dalam cm)
9. Tekan tombol ini untuk konfirmasi *setting*.

Mulai Pengukuran :

1. Nyalakan unit. Setelah menampilkan tahun, bulan dan hari, lalu akan muncul “0.00 Kg”. Jangan naik ke atas unit sebelum unit menunjukkan “0.00 Kg” karena akan muncul tulisan Err (*error*).
2. Ambil *display* unit. Jika anda hanya ingin mengukur berat badan, tidak perlu mengambil *display* unit. Ikuti langkah no 1, naik ke atas unit dan pengukuran dimulai.
3. Tekan tombol Nomor *Personal Profile*, lalu nomor *profile*.
4. Naik ke atas unit tanpa alas kaki, tempatkan kaki anda pada elektroda kaki. Setelah hasil pengukuran berat muncul, akan berkedip 2x.
5. Saat tulisan ikon seluruh tubuh muncul di monitor, ulurkan tangan lurus membentuk sudut  $90^0$  dengan tubuh anda. Unit akan mengukur *body fat*, *skeletal muscle*, dan lain lain.
6. Setelah pengukuran semua selesai, hasil pengukuran berat dan komposisi tubuh anda akan muncul kembali di monitor. Anda bisa turun dari unit.

## **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 inklusi dan eksklusi selama penelitian berlangsung, 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 (SPSS).

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 dianalisis dengan cara :

### c. Analisis Univariat

Analisa ini digunakan untuk melihat distribusi frekuensi jumlah kadar lemak subkutan dan visceral dan kadar TNF- $\alpha$  pada pasien HIV yang melakukan terapi ARV

### d. Analisis Bivariat

Analisa ini digunakan untuk mengamati hubungan kadar lemak subkutan dan visceral dengan kadar TNF- $\alpha$  pada pasien HIV yang melakukan terapi ARV, menggunakan uji *Pearson Correlation* dengan catatan data terdistribusi normal. Apabila data tidak terdistribusi normal maka peneliti menggunakan metode uji *Spearman Correlation*.

## G. Ethical Clearence

Penelitian ini menggunakan subjek manusia yaitu darah vena sebagai sampel penelitian, sehingga diperlukan tinjauan etik oleh Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang untuk menilai kelayakannya dengan No.339/KEPK-TJK/V/2025. Semua subjek diberikan penjelasan tentang tujuan dan prosedur penelitian serta diminta persetujuan tertulis (*informed consent*).