

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian bersifat analitik dengan pendekatan penelitian *cross sectional*. Penelitian ini menggunakan dua variabel berupa jumlah trombosit dan kadar procalcitonin yang didapat dari pasien rawat inap demam berdarah dengue di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung dan Laboratorium Imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Waktu

Waktu dilaksanakannya penelitian pada bulan April 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini berjumlah 28 pasien rawat inap demam berdarah dengue selama periode bulan Januari Tahun 2025 di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel diperoleh dengan menggunakan teknik total sampling didapatkan sebanyak 28 sampel. Total sampling adalah teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi. Sampel penelitian ini diambil dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Pasien rawat inap yang didiagnosa demam berdarah dengue berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium dan data rekam medik
- 2) Bersedia berpartisipasi dalam penelitian

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Pasien dengan penyakit lain selain demam berdarah dengue (malaria, tifus, pneumonia) berdasarkan data rekam medik

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan definisi operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Jumlah Trombosit	Jumlah trombosit pada pasien demam berdarah rawat inap di Rumah Sakit Bintang Amin	Observasi	Rekam medik	sel/ μ L	Rasio
2	Kadar Procalcitonin	Kadar procalcitonin yang diperoleh dari pasien demam berdarah dengue di Rumah Sakit Bintang Amin	Enzimatik	ELISA Reader	ng/mL	Rasio

E. Pengumpulan Data

Data yang dipakai terdiri dari data primer. Data ini diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah trombosit di Rumah Sakit Bintang Amin dan pemeriksaan kadar Procalcitonin di Laboratorium Imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Data ini dikumpulkan melalui proses berikut:

1. Penelusuran pustaka dilakukan untuk mendapatkan pandangan ilmiah tentang penelitian. Penelusuran pustaka dilakukan dengan membaca dan menelaah berbagai sumber ilmiah, seperti jurnal penelitian terdahulu, artikel ilmiah, dan buku referensi yang relevan dengan topik penelitian.
2. Pra-survei dilakukan di lokasi penelitian yaitu Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung. Pra-survei dilakukan dengan tujuan untuk memastikan ketersediaan pasien demam berdarah dengue (DBD) yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian. Kegiatan ini juga mencakup verifikasi jumlah populasi melalui data rekam medis. Selain itu, pra-survei bertujuan untuk mengetahui prosedur dan mekanisme teknis yang berlaku di lokasi penelitian.
3. Melakukan layak etik dan pengajuan surat izin penelitian terhadap direktur Poltekkes Tanjungkarang.
4. Setelah mendapat surat izin dari Rumah Sakit Bintang Amin, peneliti dapat melakukan penelitian terhadap pasien yang didiagnosis menderita

penyakit demam berdarah. Peneliti akan melihat hasil jumlah trombosit dan mengukur kadar procalcitonin di Laboratorium Imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

5. Peneliti memberi penjelasan mengenai *informed consent* kepada pasien atau wali pasien dan diminta untuk mengisi *informed consent* jika mereka bersedia menjadi responden peneliti.
6. Pengambilan sampel dan pemeriksaan jumlah trombosit dilakukan oleh ATLM sebagai enumerator di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung.
7. Peneliti melakukan pengambilan serum pasien dan disimpan suhu -20°C hingga jumlah sampel memenuhi dan melakukan pemeriksaan kadar procalcitonin menggunakan ELISA Reader di Laboratorium Imunoserologi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
8. Pemeriksaan procalcitonin (PCT) menggunakan alat ELISA:
 - a. Alat: ELISA Reader, ELISA Washer, microplate ELISA, mikropipet, vortex, inkubator
 - b. Bahan: Serum, Standard Solution, Standar Diluent, Streptavidin HRP, Stop Solution, Substrat A, Substrat B, Wash Buffer, Biotinylated Human PCT Antibody
 - c. Persiapan Reagen:
 - 1) Pembuatan Standar
 - a) Dibuat standar No.5: dipipet 120 μL standard solution dan 120 μL standard diluent.
 - b) Dibuat standar No.4: dipipet 120 μL standard No.5 dan 120 μL standard diluent.
 - c) Dibuat standard No.3: dipipet 120 μL No.4 dan 120 μL standard diluent.
 - d) Dibuat standard No.2: dipipet 120 μL standard No. 3 dan 120 μL standard diluent.
 - e) Dibuat Standar No. 1: dipipet 120 μL No. 2 dan 120 standard diluent.

- f) Dipipet 120 μ L ke dalam tabung EP untuk digunakan sebagai blanko.
- g) Standard diinkubasi selama 15 menit dan dilakukan homogenisasi setiap 2 menit sekali sebanyak 10 kali.

2) Pembuatan *Wash Buffer*

Dibuat pengenceran 20 ml *wash buffer concentrate* dengan aquabidest hingga menyentuh TAT 500 mL.

d. Prosedur kerja:

- 1) Dipipet 50 μ L standard ke dalam well standard.
- 2) Dipipet 50 μ L blanko ke dalam well blanko.
- 3) Dipipet 40 μ L sample ke dalam well sample.
- 4) Dipipet 10 μ L anti-PCT antibody ke dalam well sample dan 50 μ L streptavidin-HRP ke dalam well sample dan standar (kecuali well blanko).
- 5) Ditutup dengan sealer dan diinkubasi 37°C selama 60 menit.
- 6) Dibuka sealer. Microplate dicuci menggunakan ELISA washer sebanyak 300 μ L selama 30-1 menit dengan 5 kali pencucian.
- 7) Dipipet 50 μ L substrat A dan 50 μ L substrat B ke semua well.
- 8) Ditutup dengan sealer dan diinkubasi 37°C selama 10 menit.
- 9) Dipipet 50 stop solution ke semua well.
- 10) Dibaca menggunakan ELISA Reader dengan panjang 450 nm.

9. Pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan alat Hematology Analyzer Rayto WP-360:

- a. Dimasukkan darah yang akan diperiksa ke dalam tabung K3EDTA sebanyak 2 cc.
- b. Dihomogenkan dengan roller mixer dengan kecepatan sedang selama 5 menit.
- c. Dipilih mode “PROFILE”, kemudian masukkan identitas pasien, kemudian pilih “OK”.
- d. Diambil tabung sampel yang telah dihomogenkan lalu lepas tutupnya.

- e. Kemudian ditempatkan sampel darah tersebut di bawah jarum alat hematology analyzer.
- f. Diekan tombol aspirate yang ada di belakang jarum.
- g. Setelah selesai, tutup lagi tabung, kemudian tunggu hingga alat mengeluarkan hasil print out.
- h. Dicatat hasilnya.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang dipakai pada penelitian ini adalah data primer. Data primer didapat melalui pemeriksaan jumlah trombosit di Rumah Sakit Bintang Amin dan pemeriksaan kadar procalcitonin di Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang yang kemudian akan disajikan dalam bentuk table, lalu data diproses menggunakan *software* perhitungan statistik. Proses pengolahan data dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

- a. *Editing* adalah proses di mana penulis melakukan pemeriksaan terhadap data penderita DBD, hasil pemeriksaan jumlah trombosit, dan hasil pemeriksaan kadar procalcitonin yang diperoleh kemudian memastikan tidak ada kekeliruan dalam pengisian.
- b. *Coding* yaitu tahap merubah data yang diperoleh menjadi code dalam program analisa data dimana data berupa huruf atau kalimat diubah menjadi data angka. Misalnya, 1 = jumlah trombosit, 2 = kadar procalcitonin.
- c. *Processing* atau memasukkan data (*entry data*) yaitu data yang telah dicoding selanjutnya diproses ke dalam program atau *software computer*.
- d. *Cleanning* yaitu memeriksa kembali data yang sudah dientry, hal ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kemungkinan kesalahan memasukkan data. Misalnya menghapus data pasien yang tercatat lebih dari satu kali.

2. Analisa Data

a. Analisa univariat

Digunakan untuk mengetahui distribusi frekuensi pada masing-masing variabel seperti nilai mean, median, standar deviasi, maksimum, dan minimum, dimana pada penelitian ini variabel yang akan dianalisis meliputi jumlah trombosit dan kadar procalcitonin.

b. Analisis bivariat

Analisa bivariat digunakan untuk mengetahui hubungan antar dua variabel dimana dalam penelitian ini yaitu variabel jumlah trombosit dan kadar procalcitonin. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas terlebih dahulu untuk mengetahui distribusi sebaran data normal atau tidak. Selanjutnya data dilakukan analisa bivariat menggunakan uji korelasi *Spearman Correlation*.

G. Ethical Clearance

Penelitian ini melibatkan subjek manusia dengan darah vena sebagai sampel pemeriksaan. Oleh karena itu, untuk menilai kelayakannya, proposal harus diserahkan ke Komite Etik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. 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 dari vena diambil sesuai dengan SOP. Jika terjadi hematoma setelah proses pengambilan darah, pengompresan dengan air hangat dapat membantu. Subjek dapat menolak berpartisipasi tanpa konsekuensi. Identitas subjek penelitian tidak diungkapkan. Setiap dana yang diperlukan untuk penelitian ini akan ditanggung oleh peneliti.