

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan penelitian analitik dengan desain penelitian *cross sectional*. Variabel terikat yang diteliti adalah transferin dan variabel bebasnya adalah hemoglobin pada penderita hepatitis B.

B. Lokasi dan Waktu

1. Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. H. Abdul Moeloek dan penelitian dilakukan di Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang.

2. Waktu

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini berjumlah 33 pasien, populasi yang diteliti adalah pasien yang terkonfirmasi hepatitis B berdasarkan diagnosis laboratorium.

2. Sampel

Sampel penelitian ini sebanyak 30 sampel yang terdiagnosis Hepatitis B yang diambil dari populasi pada bulan Mei-Juni 2025 dan memenuhi kriteria inklusi dan tidak tergolong kriteria eksklusi. Kriteria yang digunakan meliputi:

a) Kriteria Inklusi

1. Penderita hepatitis yang terdiagnosis penyakit Hepatitis B berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium dan bersedia menjadi responden.
2. Penderita Hepatitis B yang dirawat di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek dibulan Mei-Juni 2025

b) Kriteria Eksklusi

Penderita Hepatitis B dengan komplikasi penyakit lain.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Variabel Bebas :					
	Kadar <i>Transferin</i>	Kadar transferin adalah pemeriksaan kadar transferin pada penderita hepatitis B di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek.	ELISA Reader	ELISA (Enzyme-linked immunosor bent assay)	Nilai normal 2,04-3,6 mg/ml	Rasio kadar transferin mg/ml
2.	Variabel Terikat :					
	Kadar <i>Hemoglobin</i>	Kadar hemoglobin adalah pemeriksaan kadar hemoglobin pada penderita hepatitis B di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek	Hematology Analyzer	Flowcytom eter	Nilai normal L : 14-18 g/dl P : 12-15 g/dl	Rasio kadar hemoglobin g/dl

E. Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dengan melihat hasil pemeriksaan hemoglobin dan melakukan pemeriksaan transferin pada penderita Hepatitis B di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, Kota Bandar Lampung.

1. Tahap Pengumpulan Data

- Melakukan penelusuran kepustakaan untuk mendapat perspektif ilmiah mengenai hepatitis B, transferin dan hemoglobin.
- Melakukan pra-survei ke lokasi yang dijadikan tempat penelitian yakni di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek, Bandar Lampung.
- Mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang yang selanjutnya akan diteruskan ke Kepala Diklat di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek, Bandar Lampung.
- Setelah mendapatkan izin dari pihak rumah sakit, selanjutnya peneliti akan melakukan pendataan terhadap status pasien yang terkonfirmasi menderita hepatitis B dan mengambil data hasil pemeriksaan hemoglobin di Laboratorium patologi klinik di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek melakukan

pngukur kadar Transferin di Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang.

- e. Menyampaikan penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian serta memberikan *informed consent*. Jika pasien setuju untuk menjadi responden, selanjutnya akan diminta untuk menandatangani persetujuan *informed consent* tersebut.
- f. Selanjutnya melakukan pengambilan data primer dari hasil pemeriksaan nilai hemoglobin pada penderita hepatitis B di Laboratorium patologi klinik di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek.
- g. Melakukan pengambilan darah pasien yang dibantu oleh enumerator, kemudian dibuat serum dan disimpan di suhu -40°C hingga jumlah sampel memenuhi dan melakukan pemeriksaan kadar Transferin dengan alat ELISA Reader merk Rayto di Laboratorium imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang.
- h. Menarik kesimpulan dari hasil pemeriksaan hemoglobin dan transferin untuk menentukan pengaruh kadar transferin terhadap nilai hemoglobin.

2. Cara Pengumpulan Data

a. Langkah Persiapan

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu centrifuge, vortex, tempat penyimpanan sampel sementara yang terdiri dari cool box dan ice gel, mikroplate, ELISA washer, ELISA reader, sealer (penutup plate), mikropipet dan tip, wadah berisi desinfektan, alat pelindung diri (APD).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cup serum, plastik zip lock kecil, sampel serum, kit reagen (*standar solution, standar diluent, Biotiny Human TRF Antibody, Streptavidin-HRP, stopsolution, substrat solution A, substrat solution B, wash buffer*) dan aquabidest.

2. Pembuatan Serum

- a) Darah pada tabung merah didiamkan di suhu kamar selama 30-60 menit sebelum di sentrifuge

- b) Selanjutnya di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1000-3000 rpm
 - c) Pisahkan serum dari bekuan dan masukkan kedalam cup serum yang sudah dilabeli.
3. Penyimpanan Sampel

Penyimpanan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung pada suhu -20°C sampai pemeriksaan kadar transferin dilakukan.
4. Transportasi Sampel dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung ke Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang
 - a) Setelah waktu pengumpulan sampel selesai, sampel dimasukkan ke dalam cool box yang berisi ice gel .
 - b) Apabila di dalam cool box masih terdapat ruangan kosong maka ditambahkan potongan kertas untuk mencegah terjadinya guncangan pada serum.
 - c) Menutup cool box dengan rapat.
 - d) Lalu membawa sampel yang terdapat pada cool box ke Laboratorium Imunoserologi Poltekkes Tanjungkarang untuk dilakukan pemeriksaan kadar transferin.

b. Cara Kerja

- 1) Pengenceran Standar
 - a) Siapkan sebanyak 6 tabung untuk yang digunakan dalam pengenceran standar.
 - b) Tambahkan ke masing-masing tabung sebanyak 120 mikroliter standar diluent.
 - c) Ditambahkan 120 mikro liter standar ke tabung 1.
 - d) Homogenkan dengan vortex.
 - e) Lalu tambahkan 120 ul larutan dari tabung 1 ke tabung 2, tabung 2 ke tabung 3, tabung 3 ke tabung 4, tabung 4 ke tabung 5.
 - f) Kemudian siapkan satu tabung untuk digunakan sebagai Zero standar yang berisi standar diluent.

2) Pengenceran *Wash Buffer*

20 ml buffer concentrate diencerkan sebanyak 25X dengan aquabides sebanyak untuk menghasilkan 500 ml wash buffer

3) Pemeriksaan Kadar Transferin penderita hepatitis B :

- a) Menyiapkan seluruh reagen, larutan standar dan sampel sesuai petunjuk pada suhu ruang sebelum digunakan.
- b) Menentukan dan menghitung strip well yang akan digunakan, lalu pasang pada bingkai plate.
- c) Ditambahkan 50 ul standar ke setiap sumur standar, yaitu well A1, B1, C1, D1, E1, F1 (yaitu 120 uL standar solution) dan G1 (zero standar/banko).
- d) Ditambahkan 40 ul sampel ke well berikutnya.
- e) Ditambahkan antibodi terbiotinilasi Human Transferin sebanyak 10ul keseluruhan well yang berisi sampel.
- f) Ditambahkan konjugat streptavidin HRP sebanyak 50 ul ke dalam sumur sampel dan standar kecuali pada blanko, kemudian homogenkan lalu tutup dengan sealer, inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.
- g) Sealer penutup di buka, kemudian dilakukan pencucian dengan 300 ul wash buffer selama 30 detik 1 menit sebanyak 5X menggunakan ELISA Washer.
- h) Setelah di cuci dan tidak tersisa cairan di tambahkan 50 ul substrat A keseluruhan well dan tambahkan substrat B sebanyak 50 ul ke seluruh well, tutup well dengan sealer lalu inkubasi selama 10 menit dengan suhu 37°C di tempat gelap.
- i) Ditambahkan stop solution sebanyak 50 ul ke seluruh well, dan akan terjadi perubahan warna larutan dari warna biru berubah menjadi kuning.
- j) Ukur OD dalam waktu 10 menit setelah penambahan stop solution, dengan panjang gelombang 450 nm (BT Laboratory).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang sudah didapat merupakan data primer dari hasil kuantitatif berdasarkan nilai Hemoglobin pemeriksaan darah lengkap dengan alat *hematology analyzer* dan nilai transferin pemeriksaan dengan alat ELISA Reader yang kemudian akan disajikan dalam bentuk tabel, lalu data diproses dengan *software* perhitungan statistik. Adapun proses pengolahan data sebagai berikut :

- a. *Editing*, yaitu peneliti mengecek data penderita hepatitis B, hasil pemeriksaan kadar transferin dan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin yang diperoleh kemudian memastikan tidak ada kekeliruan dalam pengisian
- b. *Coding*, yaitu pmengubah data berupa kalimat menjadi data numerik atau angka. Misal pasien laki-laki diberi kode menjadi data angka 1 dan wanita 2.
- c. *Processing* atau memasukkan data (entri data), data yang sudah dikodekan kemudian dinput ke program komputer atau perangkat lunak.
- d. *Cleaning*, yaitu memeriksa kembali data yang telah diinputkan, hal ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kesalahan dalam menginput data

2. Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan cara:

1. Analisa Univariat

Analisa univariat digunakan untuk melihat distribusi frekuensi pada setiap variabel penelitian. Data yang dianalisis secara univariat dalam penelitian ini yaitu kadar transferin pada penderita Hepatitis B dan kadar hemoglobin pada penderita Hepatitis B.

2. Analisa Bivariat

Penelitian ini menggunakan Analisa Bivariat dalam pengolahan data yaitu untuk mengetahui adanya hubungan antara variabel terikat yaitu kadar transferin dengan variabel bebas yaitu kadar hemoglobin digunakan uji statistik non-parametrik yakni uji *Rank Spearman*

menggunakan aplikasi SPSS serta melakukan uji normalitas data menggunakan *Shapiro wilk*.

G. Ethical Clearance

Penelitian ini telah dilakukan setelah diberikan izin dari komisi etik Poltekkes Tanjungkarang nomor 172/KEPK-TJK/IV/2025 tanggal 22 April 2025. Subyek dalam penelitian adalah manusia dan data responden telah dirahasiakan serta semua biaya yang digunakan pada penelitian ini di tanggung secara pribadi.