

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah analitik dengan desain penelitian *cross sectional*. Variabel bebas penelitian ini adalah kadar feritin dan variabel terikat adalah hemoglobin. pada pasien tuberkulosis paru di Puskesmas Rawat Inap Panjang.

B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian dan pemeriksaan hemoglobin dilakukan di Puskesmas Rawat Inap Panjang, tempat pemeriksaan feritin dilakukan di Laboratorium Imunoserologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2025.

C. Populasi Dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua pasien tuberkulosis paru di Puskesmas Rawat Inap Panjang. Total populasi pada bulan Mei-Juni 2025 sebanyak 40 pasien.

2. Sampel

Sampel diambil dari populasi sebanyak 30 sampel dengan kriteria :

a. Kriteria inklusi

Besedia berpartisipasi dalam penelitian ini.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Pasien tidak menderita thalasemia.
- 2) Pasien yang sedang mengalami pengobatan anemia atau suplementasi zat besi sebelum diagnosa TB paru ditegakkan.

D. Variabel Dan Definisi Oprasional

Tabel 3.1 Varibel Dan Definisi Oprasional

No Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1. Variabel Terikat: Hemoglobin	Kadar Hemoglobin pada pasien Tb Paru di Puskesmas Rawat Inap Panjang	Automatic	Hematology Analyzer	g/dl	Rasio
2. Variabel Bebas: Feritin	Kadar Feritin pada pasien Tb Paru di Puskesmas Rawat Inap Panjang	Automatic	ELISA	ng/L	Rasio

E. Teknis Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini berupa data primer. Data primer yakni hasil pemeriksaan hemoglobin dan feritin.

1. Prosedur Penelitian

- Melakukan pra survey pada lokasi penelitian yakni di Puskesmas Rawat Inap Panjang.
- Mengajukan surat izin penelitian ke Direktorat Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk selanjutnya diserahkan kepada Puskesmas Rawat Inap Panjang agar disetujui untuk melakukan penelitian.
- Setelah mendapatkan izin dari pihak Puskesmas Rawat Inap Panjang selanjutnya peneliti mencari pasien tuberkulosis paru yang ada di Puskesmas Rawat Inap Panjang.
- Peneliti memberi penjelasan mengenai *informed consent* kepada pasien dan wali pasien, jika pasien bersedia menjadi responden. Maka pasien mengisikan surat kesediaan menjadi responden penelitian.
- Peneliti melakukan pengambilan sampel darah pasien dan melakukan pemeriksaan hemoglobin di Puskesmas Rawat Inap Panjang. selanjutnya melakukan pemeriksaan feritin di laboratorium Imunoserologi yang bertempat di Jurusan Teknologi Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Prosedur pengambilan darah vena
 - a. Tourniquet dipasang pada lengan atas (\pm 5-7 cm di atas lipatan lengan).
 - b. Kemudian pilih pembuluh darah vena yang besar dan mudah di raba.
 - c. Tempat yang akan ditusuk didesinfektan dengan alkohol 70%.
 - d. Pembuluh darah vena difiksasi dengan menegangkan kulit pada bagian distal dari pembuluh darah vena tersebut dengan bantuan ibu jari kita, sehingga kulit tangan dan pembuluh darah vena tidak dapat bergerak.
 - e. Selanjutnya pegang jarum holder dengan tangan kanan kita, dengan lubang menghadap keatas pembuluh darah vena ditusuk pelan-pelan membentuk 25° , dorong jarum pelan-pelan masukkan ke dalam pembuluh darah vena.
 - f. Jika berhasil, tahan jarum dengan tangan kiri kemudian tangan kanan memasang tabung vacum pada holder, darah akan masuk kedalam tabung.
 - g. Tourniquet dilonggarkan.
 - h. Lepaskan tabung vacum lalu kocok darah.
 - i. Sepotong kapas steril diletakkan tempat tusukan, kemudian jarum diambil pelan-pelan.
 - j. Kemudian jarum dilepas dan lepaskan tourniquet.
3. Prosedur Pemeriksaan Hemoglobin
 - a. Metode Pemeriksaan
Impedanse
 - b. Prinsip Pemeriksaan
Memeriksa darah secara lengkap dengan prinsip elektronik impedance, yaitu dimana sel darah yang bersifat konduktor listrik yang kurang baik (isolator) kemudian akan menghambat hantaran listrik pada alat sehingga terjadi variasi impedansi, dan jumlah sel-sel darah akan dihasilkan baik itu Eritrosit, Leukosit, Trombosit, Hemoglobin, bahkan hingga Indeks Eritrosit.
 - c. Prosedur Pemeriksaan
 - 1) Sampel yang digunakan adalah darah EDTA (Whole Blood) dengan volume minimum 1 mL. Volume darah yang diaspirasi oleh alat adalah 50ul.
 - 2) Pastikan alat dalam status Ready. Mode default alat adalah Whole Blood.

- 3) Klik tombol (next sample) pada layar untuk memeriksa sample, kemudian akan muncul format untuk pengisian data pasien klik (Ok) pada layar.
- 4) Homogenitaskan darah yang akan diperiksa dengan baik. Letakkan di bawah *Aspiration probe*. Pastikan ujung probe menyantuh dasar botol sampel darah agar tidak menghisap udara.
- 5) Tekan Start Switch memulai proses.
- 6) Setelah terdengar bunyi Beep dua kali, (Running) muncul dilayar, dan Rinse Cup turun, tabung sampel dapat di ambil dengan cara menurunkan tabung sampel darah dari bawah.
- 7) Hasil analisis akan tampil di layar dan kemudian tekan (Print) pada layar kiri atas untuk mencetak hasil pemeriksaan.

d. Nilai Normal

Laki-laki : 13-17 g/dl

Wanita : 12-15 g/dl

4. Prosedur pemeriksaan feritin

a. Metode Pemeriksaan

kadar feritin adalah dengan metode sandwich ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*) dengan alat Elisa Reader.

b. Prinsip Pemeriksaan

Reaksi antara antigen dan antibodi, membentuk kompleks antibodi-antigen. Secara bersamaan, biotin yang menempel pada antibodi mengikat streptavidin yang di lapiasi pada lubang mikro yang mengakibatkan imobilitas kompleks. Setelah masa inkubasi yang sesuai, fraksi yang terikat antibodi-antigen dipisahkan dari antigen yang terikat melalui dekantasi atau aspirasi. Antibodi lain (yang diarahkan ke epitop yang berbeda) yang diberi label dengan enzim ditambahkan. Interaksi lain terjadi untuk membentuk kompleks antibodi-antigen yang diberi label enzim pada permukaan sumur. Enzim yang berlebih dicuci melalui langkah pencucian. Substrat yang sesuai ditambahkan untuk menghasilkan warna yang dapat diukur dengan penggunaan spektrofotometer mikrolat. Aktivitas enzim pada sumur berbanding lurus dengan konsentrasi antigen.

c. Prosedur Pemeriksaan

- 1) Memberi tanda lebel pada well mikroplate yang akan digunakan sebagai standar, control, dan sampel.
- 2) Memipet 25ul standar, control, dan sampel dan masukan kedalam well
- 3) Menambahkan 100ul reagen feritin biotin ke setiap sumur.
- 4) Menghomogenkan dengan cara menutup well dan memutar plate perlahan selama 20-30 detik.
- 5) Menginkubasi 30 menit pada suhu ruang.
- 6) Membuang isi plate dengan cara dekantasi.
- 7) Menambahkan 350ul wash buffer dan lakukan pencucian sebanyak 3 kali.
- 8) Menambahkan 100ul enzim konjugat feritin ke setiap well.
- 9) Menginkubasi 30 menit pada suhu ruang.
- 10) Membuang isi plate dengan cara dekantasi.
- 11) Melakukan pencucian dengan wash buffer sebanyak 3 kali.
- 12) Menambahkan 100ul working substrat solution ke semua plate.
- 13) menginkubasi pada suhu kamar selama 15 menit.
- 14) Menambahkan 50ul stop solution dan homogenkan selama 15-20 detik.
- 15) Membaca absorban pada alat elisa reader. Hasil harus dibaca dalam waktu 30 menit setelah menambahkan stop solution.

d. Nilai Normal

Laki-laki	: 16-220 ng/ml
Wanita	: 10-124 ng/ml
Bayi baru lahir	: 22-220 ng/ml
Anak-anak	: 10-160 ng/ml

F. Pengolahan Dan Analisa Data.

1. Pengolahan Data

Data di peroleh, dan di olah dengan cara langkah berikiut ini :

a. Memasukkan data

Data yang di peroleh lalu di masukkan ke dalam aplikasi, data tersebut berupa karakteristik pasien, kadar hemoglobin dengan kadar feritin.

b. Coding

Dilakukan coding menggunakan aplikasi.

c. Cleaning

Memeriksa data kembali yang telah di masukkan, untuk mengetahui ada tidak nya kesalahan.

d. Editing

Dilakukan pengolahan menggunakan aplikasi

2. Analisa data

Dilakukan analisa data dengan cara :

a. Analisa Univariat

Data yang dianalisis secara univariat dalam penelitian ini yaitu karakteristik pasien tuberkulosis paru berdasarkan usia dan jenis kelamin.

b. Analisa Bivariat

Analisa bivariat untuk mengetahui korelasi antar variabel menggunakan uji korelasi *Person* jika data berdistribusi normal, dan menggunakan uji korelasi *Spearman* jika data tidak berdistribusi normal.

G. *Ethical Clearance*

Penelitian ini melibatkan manusia sebagai subjek, dengan prosedur pengambilan sampel darah vena untuk mengukur kadar hemoglobin dan kadar feritin. Sebelum penelitian dilaksanakan, skripsi penelitian diajukan ke Komite Etik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang guna memastikan bahwa penelitian ini layak dan sesuai dengan prinsip etika penelitian. Nomor layak etik pada penelitian ini adalah No.447/KEPK-TJK/VII/2025 pada tanggal 23 Juli 2025. Setiap peserta akan diberi penjelasan mengenai tujuan dan prosedur penelitian, serta diminta untuk memberikan persetujuan tertulis melalui *informed consent*. Peserta berhak menolak berpartisipasi tanpa konsekuensi apa pun, dan identitas mereka akan dijaga kerahasiaannya. Semua biaya penelitian akan ditanggung oleh peneliti.