

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian metode Observasional Analitik yaitu dengan mencoba mencari hubungan antara hasil TCM TB dengan kadar hemoglobin darah pada suspek tuberkulosis di Puskesmas Kaligondang Purbalingga melalui pendekatan *cross-sectional* yang di dukung dengan studi pustaka. Data penelitian ini menggunakan data primer yaitu hasil tes cepat molekuler Xpert MTB/RIF dan pemeriksaan hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin* pada suspek tuberkulosis dan menggunakan data sekunder dari buku register laboratorium TB 06 dan 04 yang meliputi umur, jenis kelamin dan riwayat pengobatan sebelumnya.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Puskesmas Kaligondang Kabupaten Purbalingga pada bulan April sampai dengan Juni 2022.

3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang dipelajari dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas yaitu hasil TCM TB.
- b. Variabel terikat yaitu kadar hemoglobin pada suspek tuberkulosis.

3.4. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah Suspek tuberkulosis di Puskesmas Kaligondang Kabupaten Purbalingga selama bulan Januari sampai dengan Mei 2022. Pada penelitian ini, semua suspek TB yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk dalam kriteria eksklusi digunakan sebagai sampel. Berikut kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini:

a. Kriteria Inklusi

1. Berjenis kelamin laki – laki
2. Pasien berusia di atas 14 tahun
3. Pasien melakukan pemeriksaan TCM tuberkulosis di Laboratorium Puskesmas Kaligondang dan diperiksa kadar hemoglobinnya

Kriteria inklusi berjenis kelamin laki-laki berdasarkan pertimbangan wanita dalam menstruasi menunjukkan kadar hemoglobin kurang dari normal, sehingga masa menstruasi berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan morfologi eritrosit (Hadijah, 2019).

b. Kriteria Eksklusi

1. Suspek TB dengan hasil pemeriksaan TCM MTB terdeteksi resistan rifampisin terdeteksi
2. Suspek TB melakukan pemeriksaan TCM TB di Laboratorium Puskesmas Kaligondang tetapi tidak dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin

3.5. Definisi Operasional

Dalam penelitian ini, definisi operasional variabelnya meliputi variabel bebas yaitu hasil pemeriksaan TCM TB dengan skala kategorik nominal dan variabel terikatnya adalah hasil pemeriksaan hemoglobin.

Metode pengukuran yang digunakan pada pemeriksaan TCM yaitu pengukuran fluorosensi dan algoritma perhitungan otomatis dengan menggunakan mesin GeneXpert MTB/Rif. Sedangkan pada pemeriksaan hemoglobin menggunakan metode *cyanmethemoglobin* dengan alat Fotometer.

Hasil pengukuran pada pemeriksaan TCM TB meliputi dua kategori yaitu MTB *Detected*, dan MTB *Not Detected*. Sedangkan pada pengukuran kadar hemoglobin adalah hasil pengukuran numerik dengan satuan g/dL.

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Pengukuran	Hasil Ukur	Satuan	Skala Pengukuran
TCM TB	Metode tes cepat berbasis molekuler dengan pengukuran fluoresensi dan algoritma otomatis untuk mendeteksi DNA MTB dan mendeteksi mutasi gen <i>rpoB</i> . Metode ini tidak digunakan sebagai monitoring pada pasien yang mendapatkan pengobatan.	Pemeriksaan TCM GeneXpert MTB/Rif	1. MTB <i>Detected</i> 2. MTB <i>Not Detected</i>	-	Nominal
Kadar Hemoglobin	Protein yang mengandung zat besi di dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru paru keseluruh tubuh.	Pemeriksaan darah vena EDTA menggunakan Fotometer dengan metode <i>Cyanmethemoglobin</i>	Kadar numerik hemoglobin	g/dL	Rasio

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

Untuk pemeriksaan TCM TB dalam penelitian ini menggunakan alat pemeriksaan TCM GeneXpert MTB/Rif system dengan menggunakan cardtrige khusus alat tersebut. Peralatan lain yang diperlukan adalah pipet tetes, tissue kering, timer, spidol, tempat sampah infeksius dan juga alat pelindung diri pemeriksa berupa gown, apron plastik, masker N95 dan sarung tangan bebas tepung (*powder free*). Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan TCM adalah sampel sputum/dahak dan larutan buffer lysis khusus untuk pemeriksaan GeneXpert MTB/Rif. Untuk pemeriksaan Hb, alat yang dibutuhkan antara lain Fotometer, pipet 5 ml, mikropipet 20 ul, tabung reaksi, rak tabung reaksi, yellow tip, tissue, timer, spidol, tempat sampah infeksius dan alat pelindung diri berupa gown, dan sarung tangan. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin

berupa sampel darah vena EDTA menggunakan tabung *vacutainer* berwarna ungu.

3.7. Prosedur Kerja Penelitian

3.7.1. Tahap Persiapan

Kegiatan yang dilakukan untuk membantu proses penyelesaian penelitian, perlu disusun pedoman kerja yang matang, sehingga dapat merencanakan waktu penyelesaian laporan penelitian secara wajar sesuai dengan bobot pertanyaan yang diajukan, dan mencapai tujuan penulisan penelitian.

Persiapan awal yang dilakukan untuk menunjang kelancaran penyusunan Penelitian adalah sebagai berikut :

1. Persyaratan administrasi Penelitian dilengkapi.
2. Studi pustaka berupa pengumpulan materi studi sebagai referensi dalam analisis data dan perancangan desain dilengkapi.
3. Kebutuhan data penelitian ditentukan.
4. Persyaratan administrasi untuk pengumpulan data diadakan.
5. Skripsi penelitian dibuat.
6. Data dan rangkuman kerja penelitian dipresentasikan.
7. Jadwal rencana penelitian dibuat.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Puskesmas Kaligondang pada bulan April sampai dengan Juni 2022. Penelitian ini melibatkan antara lain dokter penanggung jawab laboratorium, petugas program TB, petugas administrasi laboratorium, petugas laboratorium serta kepala Puskesmas Kaligondang sebagai penanggung jawab fasilitas kesehatan.

3.7.2. Tahap Pelaksanaan

Kegiatan penelitian yang dilakukan meliputi pengumpulan data dan menganalisis data. Tahap ini meliputi cara kerja dari metode pemeriksaan yang diterapkan pada penelitian ini, yang meliputi :

3.7.2.1. Cara Kerja Pemeriksaan TCM GeneXpert MTB/Rif :

Sampel dahak dikumpulkan petugas, pasien diberikan wadah khusus dari plastik steril. Untuk mengeluarkan dahak, pasien diminta menghirup napas dalam-

dalam dan menahannya selama sekitar lima detik. Setelah ditahan, kemudian pasien mengeluarkan nafas secara perlahan.

a. Spesimen dipersiapkan:

1. Larutan *buffer lysis* (Xpert MTB/Rif sampel reagen) ditambahkan ke dalam sampel sputum/dahak dengan perbandingan satu bagian sampel dan dua bagian *buffer lysis* (Xpert MTB/Rif sampel reagen) dan dihomogenkan dengan mengocok kuat 10-20 kali kemudian diinkubasi selama 10 menit.
2. Larutan dikocok kuat kembali selama 10-20 kali dan diinkubasi lagi selama 5 menit.
3. Larutan campuran diperiksa, jika masih terlihat kental maka ditambahkan waktu inkubasi 5-10 menit lagi.
4. *Cardtrige* disiapkan dan diberi identitas.
5. Penutup *cardtrige* dibuka dan larutan campuran tersebut dimasukkan minimal 2 ml larutan dengan menggunakan pipet yang tersedia.
6. *Cardtrige* yang sudah terisi larutan ditutup.
7. Cairan yang mungkin tercecer di sekitar *cardtrige* dibersihkan dengan tissue kering.

b. Tes dimulai :

1. *Cardtrige* yang sudah berisi sampel dimasukkan ke dalam mesin TCM GeneXpert MTB/Rif.
2. *Create Test* pada menu GeneXpert DX System diklik, akan muncul perintah *Scan Catridge Barcode*, dilakukan *scanning* pada barcode *Catridge TCM Xpert MTB/Rif Dx System*.
3. Data identitas pasien dan data sampel diisi pada kotak *Create test*, dan pemilihan modul dilakukan secara otomatis oleh sistem pada alat. Tombol *Start Test* diklik dan lampu indikator berwarna hijau pada modul akan berkedip/menyala.
4. *Cardtrige* yang sudah berisi sampel dimasukkan ke dalam modul.
5. Pintu modul ditutup sampai bunyi klik untuk memulai tes.
6. Hasil pemeriksaan diperoleh dalam waktu 1 jam 50 menit.

Tabel 3.2. Hasil dan Interpretasi Pemeriksaan TCM

Hasil	Interpretasi
MTB <i>Detected Rif Resistance Detected</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> terdeteksi, kemungkinan besar resistan terhadap rifampisin
MTB <i>Detected Rif Resistance Not Detected</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> tidak terdeteksi, kemungkinan besar sensitif terhadap rifampisin
MTB <i>Detected Rif Resistance Indetermined</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> /resistensi tidak dapat ditentukan karena sinyal penanda resistansi tidak cukup terdeteksi
MTB <i>Not Detected Invalid</i>	DNA MTB tidak terdeteksi Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena kurva SPC tidak menunjukkan kenaikan jumlah amplikon, proses sampel tidak benar, reaksi PCR terhambat
Error	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan, Quality control internal gagal atau terjadi kegagalan sistem
No Result	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena data reaksi PCR tidak mencukupi

Keterangan :

Apabila terjadi *Indetermined/Invalid/Error/No Result* maka dilakukan pengulangan proses pemeriksaan.

3.8.2.1. Cara Kerja Pemeriksaan Hemoglobin :

a. *Vacutainer* digunakan untuk pengambilan darah vena :

1. Jarum pada bagian tutup yang berwarna dipegang dengan satu tangan, kemudian putar dan dilepaskan bagian berwarna putih dengan tangan lainnya.
2. Jarum pada holder dipasang, dibiarkan tutup yang berwarna tetap pada jarum.
3. Tutup jarum dilepaskan ketika posisi pungsi telah siap. Pungsi vena dilakukan seperti biasa.
4. Tabung dimasukkan ke holder dengan menempatkan jari telunjuk dan tengah pada pinggiran holder dan tabung didorong dengan menggunakan ibu jari sampai ujung holder.

5. *Torniquet* dilepaskan saat darah mulai mengalir ke tabung. Pengaliran darah akan berhenti otomatis bila kevakuman habis.
- b. Prosedur Pemeriksaan Hemoglobin Metode *Cyanmethemoglobin*:
 1. Larutan *drabkins* dimasukkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung.
 2. Darah dipipet sebanyak 20 ul dan dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi larutan *drabkins*.
 3. Larutan tersebut dicampur dan dibiarkan pada suhu kamar selama 5 menit.
 6. Hasil pemeriksaan dibaca pada Fotometer dengan panjang gelombang 546 nm dan blanko menggunakan larutan *drabkins*.

3.7.3. Tahap Pelaporan

Tahap pelaporan penelitian dilakukan kegiatan sebagai berikut:

1. Hasil analisis dan kesimpulan penelitian dibuat
2. Hasil data dievaluasi bersama pembimbing
3. Hasil penelitian dicetak
4. Penelitian dipublikasikan

3.8. Jenis dan Pengumpulan Data

Data penelitian yang diperoleh pada penelitian ini adalah data primer dengan pemeriksaan dan observasi langsung terhadap sampel pasien suspek TB yang diperiksa dengan mesin GeneXpert MTB/Rif dan pemeriksaan hemoglobin dengan Fotometer. Untuk data sekunder diperoleh dari data form TB 06, TB 04 pemeriksaan Tuberkulosis dan register pemeriksaan laboratorium.

3.9. Analisis Data

Data pemeriksaan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode statistik uji *T independent*. nilai batas maksimal kesalahan menolak hipotesis nol adalah 5%.

Rumus uji *T independent*

$$t = \frac{x_a - x_b}{S_p \sqrt{\left(\frac{1}{n_a}\right) + \left(\frac{1}{n_b}\right)}}$$

Dimana S_p :

$$S_p^2 = \frac{(n_a - 1)S_a^2 + (n_b - 1)S_b^2}{n_a + n_b - 2}$$

Keterangan :

Xa = rata-rata kelompok a

Xb = rata-rata kelompok b

Sp = Standar Deviasi gabungan

Sa = Standar deviasi kelompok a

Sb = Standar deviasi kelompok b

na = banyaknya sampel di kelompok a

nb = banyaknya sampel di kelompok b

Apabila data berdistribusi tidak normal, penelitian akan menggunakan analisis data uji *Mann-Whitney U*.

Rumus uji *Mann-Whitney U*

$$Z = \frac{U - \frac{n_1 \cdot n_2}{2}}{\sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 \cdot (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}$$

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2 (n_2 + 1)}{2} - \sum R_2$$

$$U_2 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - \sum R_1$$

Keterangan :

U1 = Statistik uji U1

U2 = Statistik uji U2

R1 = Jumlah rank sampel 1

R2 = Jumlah rank sampel 2

N1 = Banyaknya anggota sampel 1

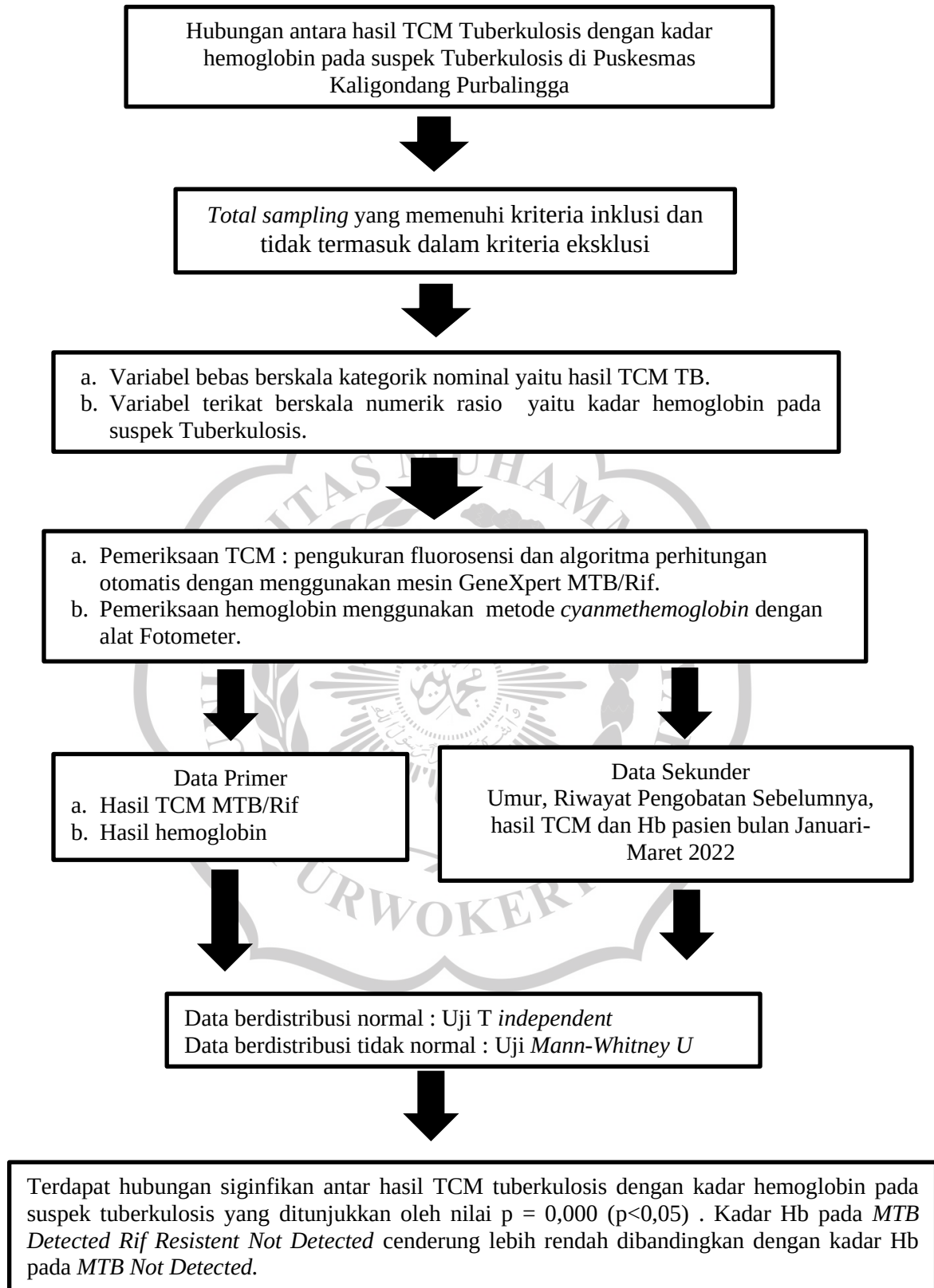
N2 = Banyaknya anggota sampel 2

3.10. Etika Penelitian

Penelitian dilaksanakan setelah mendapat instrumen sebagai berikut:

1. Persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto nomor registrasi. KEPK/UMP/34/2022
2. Ijin penelitian dari BAPELITBANGDA Kabupaten Purbalingga nomor. 071/102/2022
3. Ijin penelitian dari Dinas Kesehatan Kabupaten Purbalingga nomor. 071/1588/2022

3.11. Bagan Alur Penelitian



Gambar 3.1. Bagan Alur Penelitian