

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah Ilmu Patologi Klinik.

1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium basah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada bulan April-Mei 2016.

1.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan belah lintang (*cross sectional*).

1.4 Populasi dan Subyek Penelitian

1.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah mahasiswa yang merokok.

1.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah mahasiswa di lingkungan Universitas Diponegoro yang merokok.

1.4.3 Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah mahasiswa di lingkungan Universitas Diponegoro yang merokok yang memenuhi kriteria penelitian. Kriteria penelitian adalah sebagai berikut:

1.4.3.1 Kriteria Inklusi

- 1) Laki-laki.
- 2) Usia 17-25 tahun.
- 3) Pada saat penelitian dalam kondisi sehat dan tidak sedang demam (suhu tubuh 36° - 37° C).
- 4) Bersedia untuk diikutsertakan dalam penelitian.

1.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Memiliki riwayat hipertensi, diabetes mellitus, atau penyakit kardiovaskuler.
- 2) Mengonsumsi obat-obat antiagregasi trombosit atau *non steroid anti inflammation drug* (NSAID).
- 3) Memiliki riwayat kelainan pembekuan darah.

1.4.4 Cara Sampling

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan menggunakan *consecutive sampling*, di mana setiap mahasiswa Universitas Diponegoro yang memenuhi kriteria penelitian dimasukkan penelitian hingga jumlah subyek terpenuhi.³⁶

1.4.5 Besar Subyek Penelitian

Besar subyek dalam penelitian dihitung berdasarkan rumus:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 p q}{d^2}$$

Keterangan:

n = jumlah subyek yang diperlukan

α = derajat kepercayaan

p = proporsi perokok sebesar 66%

$q = 1-p$

d = presisi absolut atau limit dari error

$$n = \frac{1,96^2 \cdot 0,66 \cdot 0,34}{(0,2)^2}$$

$$n = \frac{0,86206}{0,04}$$

$n = 21,55$ dibulatkan menjadi 22 orang

Dalam penelitian diambil responden sebanyak 22 orang yang diharapkan dapat menjaga validitas penelitian ini.

1.5 Variabel Penelitian

1.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah merokok.

1.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah presentase agregasi trombosit.

1.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No	Variabel	Skala
1	Merokok Merokok diartikan dengan menghisap atau menghirup asap rokok dengan menggunakan pipa atau rokok sebanyak 1	Rasio

batang atau lebih setiap hari/hampir setiap hari selama minimal 6 bulan selama hidupnya dan masih merokok saat penelitian dilakukan. Parameter merokok yang dinilai adalah lama merokok dalam bulan dan jumlah batang rokok perhari yang dikonsumsi.

2 Agregasi trombosit Rasio

Agregasi trombosit adalah beberapa trombosit yang membentuk kelompok (*clump trombosit*) yang terlihat dalam pembacaan sediaan apus darah tepi dengan perhitungan hasil dalam bentuk persen (%).

1.7 Cara Pengumpulan Data

1.7.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah:

1. Darah vena
2. Larutan ADP konsentrasi 10 μM
3. Natrium sitrat 3,8 %
4. Kapas alkohol
5. Cat giemsa
6. Methanol

1.7.2 Alat

Alat yang digunakan adalah:

1. Sputit
2. Torniquet
3. Tabung reaksi

4. Pipet
5. Objek glass
6. Mikroskop
7. Counter

1.7.3 Jenis Data

Jenis data yang digunakan berupa data primer, yaitu data diambil sendiri oleh peneliti dari subyek penelitian secara langsung.

1.7.4 Cara Kerja

1.7.4.1 Persiapan Subyek Penelitian

Melakukan wawancara mengenai riwayat merokok, riwayat penyakit yang pernah dialami, usia sesuai KTP dan melengkapi berkas persetujuan. Subyek penelitian diminta untuk puasa 12 jam sebelum pengambilan darah.

1.7.4.2 Pengambilan Specimen

1. Subyek dipersilahkan duduk di tempat yang tersedia untuk pengambilan sampel.
2. Melakukan persiapan alat yang akan digunakan.
3. Menjelaskan proses yang akan dilakukan dan meminta ijin melakukan pengambilan sampel dengan cara lisan atau tertulis dengan lembaran persetujuan atas tindakan.
4. Melakukan bendungan pada lengan atas subyek pada sisi yang akan dilakukan sampling.

5. Melakukan disinfeksi pada lokasi, yaitu v. mediana cubiti dengan kapas alkohol.
6. Melakukan penusukan pada v. mediana cubiti dengan sudut kemiringan jarum 45° dan posisi lubang jarum menghadap ke atas.
7. Mengambil darah v. mediana cubiti sebanyak 3 ml.
8. Melepaskan manset pengikat lengan.
9. Melepaskan jarum dengan hati-hati sambil meletakkan kapas alkohol pada lokasi tusukan untuk dilakukan penekanan sementara hingga perdarahan berhenti.
10. Masukkan darah ke dalam tabung yang telah terisi 0,2 ml antikoagulan natrium sitrat 3,8 % (perbandingan darah dengan antikoagulan = 9:1)
11. Dilakukan pemeriksaan.

1.7.4.3 Pembuatan Sediaan Apus Darah Tepi

1. Mengambil darah dari tabung dengan pipet sebanyak 10 μ l untuk pemeriksaan sediaan apus darah tepi awal atau pada menit ke-0 (non-induktor).
2. Menambahkan ADP pada sisa darah yang ada dengan perbandingan ADP dan darah natrium citrate sebesar 1 : 10, menunggu 3 menit dan mengambil darah dengan pipet sebanyak 10 μ m untuk pemeriksaan sediaan apus darah tepi pada menit ke-3 (dengan induktor).
3. Menunggu sediaan apus hingga kering, lalu memfiksasi dengan methanol selama 5 menit.

4. Melakukan pengecatan dengan giemsa yang telah diencerkan (1 : 9) selama 20 menit.
5. Membilas dengan air dan dibiarkan hingga kering.⁷

1.7.4.4 Pembacaan Agregasi Trombosit pada Sediaan Apus Darah Tepi

1. Pembacaan preparat dilakukan pada perbatasan zona VI dan ekor daerah lateral, medial, dan mediolateral.
2. Pembacaan dilakukan dengan perbesaran 400x (lensa okuler 10x dan lensa obyektif 40x).
3. Menghitung jumlah trombosit pada masing-masing kelompok trombosit yang ada dan jumlah trombosit yang tersebar pada ketiga lapangan pandang. Bila diperlukan, penghitungan jumlah trombosit dalam kelompok dapat menggunakan perbesaran 1000x (lensa okuler 10x dan lensa obyektif 100x).
4. Presentase trombosit yang beragregasi dihitung berdasarkan jumlah trombosit yang berkelompok dibandingkan jumlah trombosit total (trombosit berkelompok dan tidak berkelompok) pada ketiga lapangan pandang. Penghitungan dilakukan pada sediaan apus darah tepi menit ke-0 dan ke-3.
5. Menghitung kadar agregasi trombosit dengan rumus:

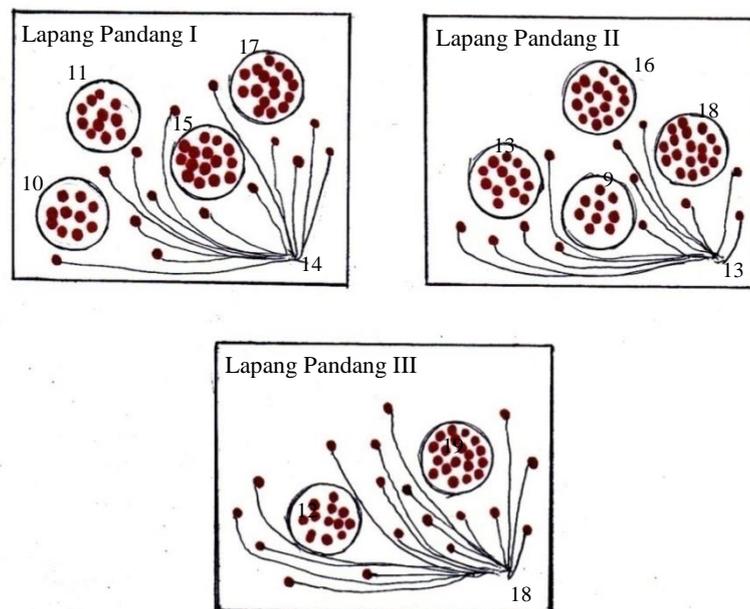
$$\% \text{ agregasi trombosit} = \frac{\text{trombosit beragregasi} \times 100 \%}{\text{trombosit total}}$$

$$\% \text{ agregasi dengan koreksi} = \frac{(\% \text{ agregasi total} - \text{awal}) \times 100}{100 - \% \text{ agregasi awal}}$$

Keterangan:

- ★ % agregasi trombosit ialah agregasi trombosit yang dihitung pada masing-masing preparat apus darah tepi (yang menggunakan induktor ADP maupun tanpa ADP/kontrol).
- ★ % agregasi trombosit dengan koreksi ialah hasil perhitungan agregasi trombosit dengan memasukkan hasil % agregasi trombosit pada preparat dengan ADP dan preparat tanpa ADP ke dalam rumus untuk mendapatkan hasil agregasi trombosit yang terkoreksi.
- ★ % agregasi total = % agregasi trombosit pada preparat tanpa ADP
- ★ % agregasi awal = % agregasi trombosit pada preparat dengan ADP
- ★ Nilai normal % agregasi trombosit dengan koreksi = 50-70 %

Contoh pembacaan agregasi trombosit secara mikroskopik:



Gambar 6. Contoh gambaran skematik trombosit berkelompok dan bebas pada sediaan apus darah tepi

Trombosit beragregasi :

$$\text{Lapang Pandang I} : 10 + 11 + 15 + 17 = 53$$

$$\text{Lapang Pandang II} : 13 + 9 + 16 + 18 = 56$$

$$\text{Lapang Pandang III} : 19 + 12 = 31 +$$

$$140$$

Trombosit bebas :

$$\text{Lapang Pandang I} : 14$$

$$\text{Lapang Pandang II} : 13$$

$$\text{Lapang Pandang III} : 18 +$$

$$45$$

$$\text{Trombosit total} = 140 + 45 = 185$$

$\text{Presentase agregasi trombosit} = \frac{\text{trombosit beragregasi} \times 100 \%}{\text{trombosit total}}$
--

$$= \frac{140}{185} \times 100 \%$$

$$= 75,7 \%$$

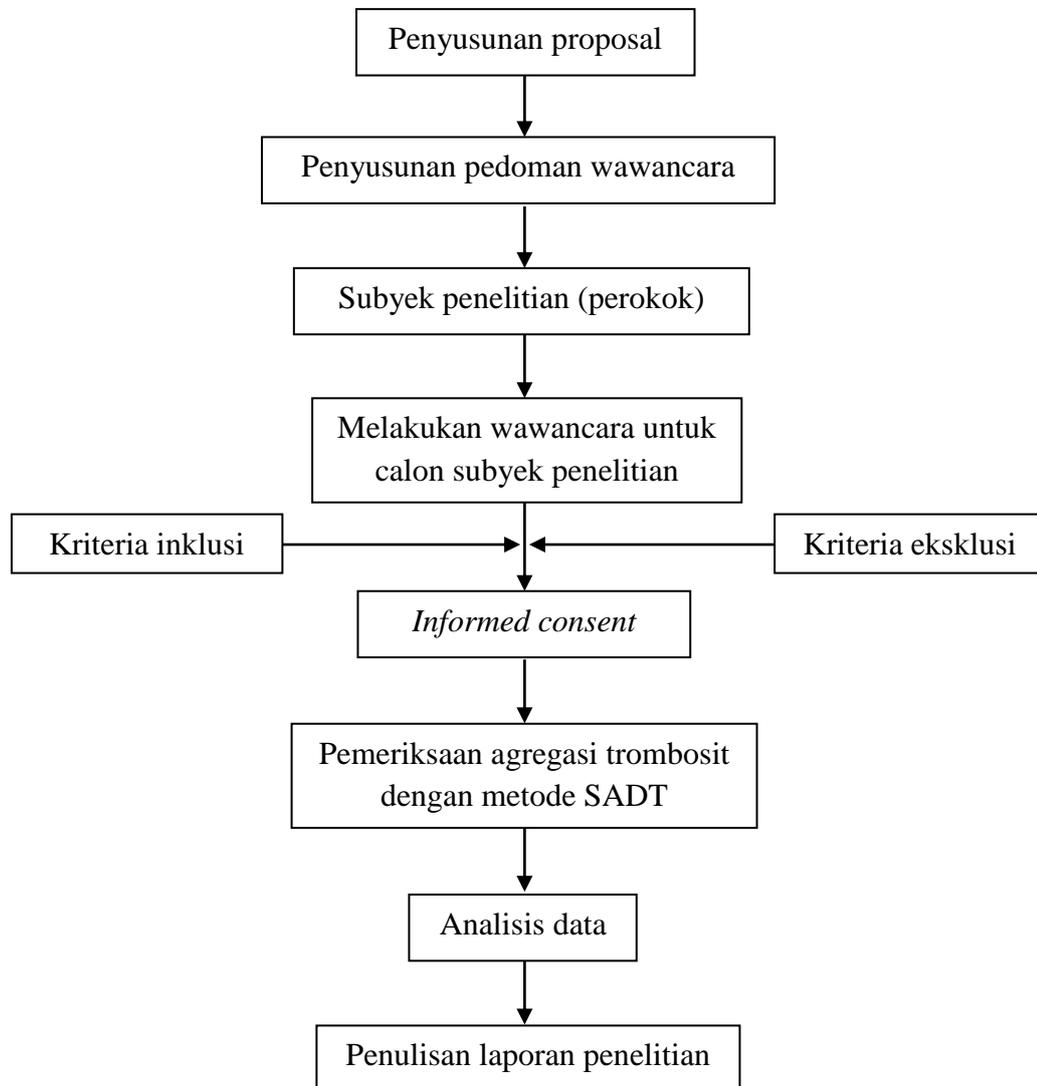
$\text{Presentase agregasi dengan koreksi} = \frac{(\% \text{ agregasi total} - \text{awal}) \times 100}{100 - \% \text{ agregasi awal}^*}$

$$= \frac{75,7 \% - 0 \%}{100 - 0} \times 100$$

$$= 75,7 \%$$

*% agregasi awal = % agregasi pada menit ke-0 atau tanpa ADP, misalkan sebesar 0 % (tidak ada agregasi).

1.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Bagan alur penelitian

1.9 Analisis Data

Pada data yang terkumpul dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan kebenaran data sebelum dilakukan analisis. Data akan diberi kode, ditabulasi, dan dilakukan uji statistik.

Analisa univariat dilakukan terhadap masing-masing variabel untuk mengetahui distribusi dari tiap variabel. Data dan informasi tersebut dibuat distribusi frekuensi dan disajikan dalam bentuk tabel dan diagram.

Analisis bivariat dilakukan untuk mengetahui hubungan antara merokok dengan agregasi trombosit. Data yang diperoleh akan dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk*. Statistik parametrik akan digunakan apabila kedua variabel (variabel bebas dan variabel terikat) berdistribusi normal. Uji hipotesis yang digunakan adalah uji Pearson karena jenis hipotesis adalah korelatif. Sedangkan jika distribusi kedua variabel tidak normal, statistik non-parametrik akan digunakan dengan uji hipotesis Spearman. Nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%. Analisis data akan menggunakan SPSS (*Statistical Program for Social Science*) for Windows.

1.10 Etika Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian, protokol penelitian telah dimintakan persetujuan (*ethical clearance*) ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UNDIP.

Persetujuan subyek penelitian untuk diikutsertakan dalam penelitian diminta dalam bentuk *informed consent* tertulis dan sebelumnya diberikan penjelasan mengenai tujuan, manfaat, serta prosedur penelitian. Subyek penelitian berhak menolak untuk diikutsertakan tanpa adanya konsekuensi apapun dan berhak untuk keluar dari penelitian sesuai dengan keinginannya.

Identitas subyek penelitian dirahasiakan dan subyek penelitian berhak mengetahui hasil pemeriksaan sehingga hasil penelitian akan diinformasikan kepada subyek penelitian setelah penelitian selesai.

Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian menjadi tanggung jawab peneliti.