

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup keilmuan dalam penelitian ini adalah bidang ilmu Mikrobiologi Klinik, Patologi Klinik, Imunologi, dan Ilmu Penyakit Dalam.

#### **3.2 Ruang Lingkup Tempat**

##### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan pada bulan Juni sampai Agustus 2017.

##### **3.2.2 Tempat Penelitian**

- a. Pengambilan data berupa serum darah dari pendonor darah reguler, data subjek penelitian, dan hasil pemeriksaan HBsAg dilakukan di UDD PMI Kota Semarang.
- b. Identifikasi profil anti-HBs dan anti-HBc pada darah donor dilaksanakan di Laboratorium Sentral FK Undip.

### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional analitik dengan pengambilan data secara belah lintang (*cross-sectional*), serta teknik pengambilan data berupa *consecutive sampling*.

### **3.4 Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **3.4.1 Populasi Target**

Populasi target penelitian ini adalah para pendonor darah reguler di UDD PMI Kota Semarang.

#### **3.4.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau penelitian ini adalah para pendonor darah reguler di UDD PMI Kota Semarang yang mendonorkan darahnya pada bulan Juni 2017.

#### **3.4.3 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian ini adalah populasi terjangkau di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang Jawa Tengah dan memenuhi syarat kriteria inklusi dan eksklusi.

##### **3.4.3.1 Kriteria Inklusi**

- a. Pendonor yang memenuhi syarat donor oleh PMI
- b. Darah donor dari pendonor reguler di UDD PMI Kota Semarang

##### **3.4.3.2 Kriteria Eksklusi**

Darah yang mengalami hemolisis, lipemik, dan ikterik.

### 3.4.4 Cara Sampling

Pemilihan subjek penelitian dilakukan dengan sistem *consecutive sampling*. Pengambilan data demografi melalui data milik PMI di pangkalan data bagian Humas Kantor PMI Kota Semarang yang meliputi hasil uji HBsAg, data jenis kelamin, usia, dan jenis pekerjaan dari subjek penelitian. Pengambilan data status vaksinasi pada subjek dengan anti-HBs positif dilakukan melalui wawancara. Serum darah yang diperoleh dari sampel darah donor yang digunakan untuk pemeriksaan skrining IMLTD pada PMI, kemudian akan diperiksa kadar anti-HBs dan anti-HBc.

### 3.4.5 Besar Sampel

Pendonor reguler di UDD PMI Kota Semarang pada bulan Juni 2017 yang dihitung menggunakan rumus besar sampel untuk data nominal, dengan langkah :

$$N = \frac{Z\alpha^2 PQ}{d^2}$$

dimana :

N = besar sampel minimal

P = proporsi anti-HBs protektif, yaitu 0,22

Q = 1-P, yaitu 0,78

d = presisi penelitian, yaitu 0,09

Z $\alpha$  = deviat baku alpha, yaitu 1,96

sehingga,

$$N = \frac{(1,96)^2 \times 0,22 \times 0,78}{(0,09)^2}$$

$$N = 81$$

Jadi, jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 81 orang.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

- a. Jenis kelamin
- b. Usia
- c. Pekerjaan

#### **3.5.2 Variabel Tergantung**

HBsAg, anti-HBs, dan anti-HBc

### 3.6 Definisi Operasional

**Tabel 6.** Definisi Operasional

| No | Nama Variabel | Definisi Operasional  | Skala   | Nilai   |
|----|---------------|---|---------|---|
| 1  | HBsAg         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• HBsAg adalah kompleks antigen yang ditemukan pada permukaan HBV, merupakan penanda serologi yang menandakan adanya infeksi akut atau karier kronis lebih dari 6 bulan.</li> <li>• HBsAg dari darah pendonor reguler diuji dengan ChLIA yang memiliki sensitivitas <math>\geq 99,5\%</math> dan spesifisitas <math>99,8\%</math>.</li> </ul>  | Nominal | 1 = HBsAg positif<br>2 = HBsAg negatif  |
| 2  | Anti-HBs      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anti-HBs merupakan antibodi golongan IgG terhadap HBsAg yang timbul setelah terpapar virus hepatitis B atau setelah vaksinasi hepatitis B yang bersifat protektif.</li> <li>• Titer anti-HBs bernilai positif bila <math>\geq 10</math> mIU/ml dan dianggap protektif bila <math>\geq 100</math> mIU/ml.</li> <li>• Anti-HBs dari darah pendonor reguler diperiksa dengan Wantai ELISA Kit anti-HBs yang memiliki sensitivitas <math>100\%</math> dan spesifisitas <math>&gt;99\%</math>.</li> </ul> | Nominal | 1 = anti-HBs positif<br>2 = anti-HBs negatif<br><br>1 = anti-HBs $\geq 100$ mIU/mL<br>2 = anti-HBs $< 100$ mIU/mL |

|   |               |   |         |   |
|---|---------------|---|---------|---|
| 3 | Anti-HBc      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anti-HBc adalah antibodi terhadap hepatitis B <i>core</i>.</li> <li>• Anti-HBc menunjukkan adanya riwayat infeksi hepatitis B</li> <li>• Anti-HBc dari serum darah subjek penelitian yang diperiksa dengan iCare HBcAb (Hepatitis core Antibody) <i>rapid screen test</i> yang memiliki spesifisitas 99% dan sensitivitas 97,99%.</li> </ul> | Nominal | <p>1 = anti-HBc positif</p> <p>2 = anti-HBc negatif</p>   |
| 4 | Jenis kelamin | <p>Jenis kelamin subjek penelitian (pendonor reguler) yang diperoleh dari formulir donor darah.</p>   | Nominal | <p>1 = Laki-laki</p> <p>2 = Perempuan</p>   |
| 5 | Usia          | <p>Usia subjek penelitian (pendonor reguler) adalah usia saat dilakukan penelitian yang dihitung berdasarkan tanggal lahir yang tertera di data formulir donor darah PMI, usia dinyatakan dalam tahun penuh.</p>  | Nominal | <p>1 = 17-30 tahun</p> <p>2 = 31-40 tahun</p> <p>3 = 41-50 tahun</p> <p>4 = 51-60 tahun</p> <p>5 = &gt;60 tahun</p> |
|   |               |   |         | <p>1 = ≤30 tahun</p> <p>2 = &gt;30 tahun</p>  |

|   |                  |   |         |   |
|---|------------------|---|---------|---|
| 6 | Pekerjaan        | Pekerjaan subjek penelitian (pendonor reguler) adalah jenis pekerjaan subjek saat ini yang disesuaikan dengan pengisian data di formulir donor darah PMI. | Nominal | 1 = TNI/POLRI<br>2 = Swasta<br>3 = Mahasiswa<br>4 = PNS/BUMN<br>5 = Wiraswasta<br>6 = Lainnya<br><br>1 = Pelajar/Mahasiwa<br>2 = Bukan Pelajar/Mahasiwa |
| 7 | Status Vaksinasi | Riwayat vaksinasi pada subjek penelitian dengan anti-HBs positif yang diperoleh melalui wawancara   | Nominal | 1 = Sudah<br>2 = Belum  |

### **3.7 Cara Pengumpulan Data**

#### **3.7.1 Bahan**

- a. Serum darah 1 ml
- b. Wantai ELISA kit anti-HBs (kuantitatif)
- c. iCare Anti-HBc *One Step Rapid Test Cassette*

#### **3.7.2 Alat**

- a. Formulir donor darah
- b. Sarung tangan
- c. Tabung serum darah
- d. ELISA reader
- e. Mikropipet

#### **3.7.3 Jenis Data**

Semua data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer berupa data hasil uji anti-HBs dan anti-HBc, serta data sekunder berupa hasil pemeriksaan HBsAg yang dilakukan oleh UDD PMI Kota Semarang, data faktor demografi subjek penelitian milik PMI Kota Semarang yang meliputi jenis kelamin, usia, dan jenis pekerjaan.

#### **3.7.4 Cara Kerja**

##### **3.7.4.1 Pengambilan Data Pendoror Reguler**

Calon subjek penelitian yang telah menandatangani formulir donor darah sebagai *informed consent* maka telah dianggap bersedia untuk dijadikan subjek penelitian. Adanya ijin dari UDD PMI Kota Semarang juga dibutuhkan oleh peneliti untuk melakukan pengambilan data dan



sampel darah dari pendonor yang telah dipastikan bahwa subjek termasuk pendonor reguler di UDD PMI Kota Semarang.

#### **3.7.4.2 Pengambilan Sampel Darah dari Pendonor Reguler**

Pada penelitian ini serum diambil dari *whole blood* (WB) yang diperoleh dari sampel darah yang digunakan untuk pemeriksaan skrining IMLTD pada PMI sebelum darah dinyatakan layak untuk diberikan ke resipien.

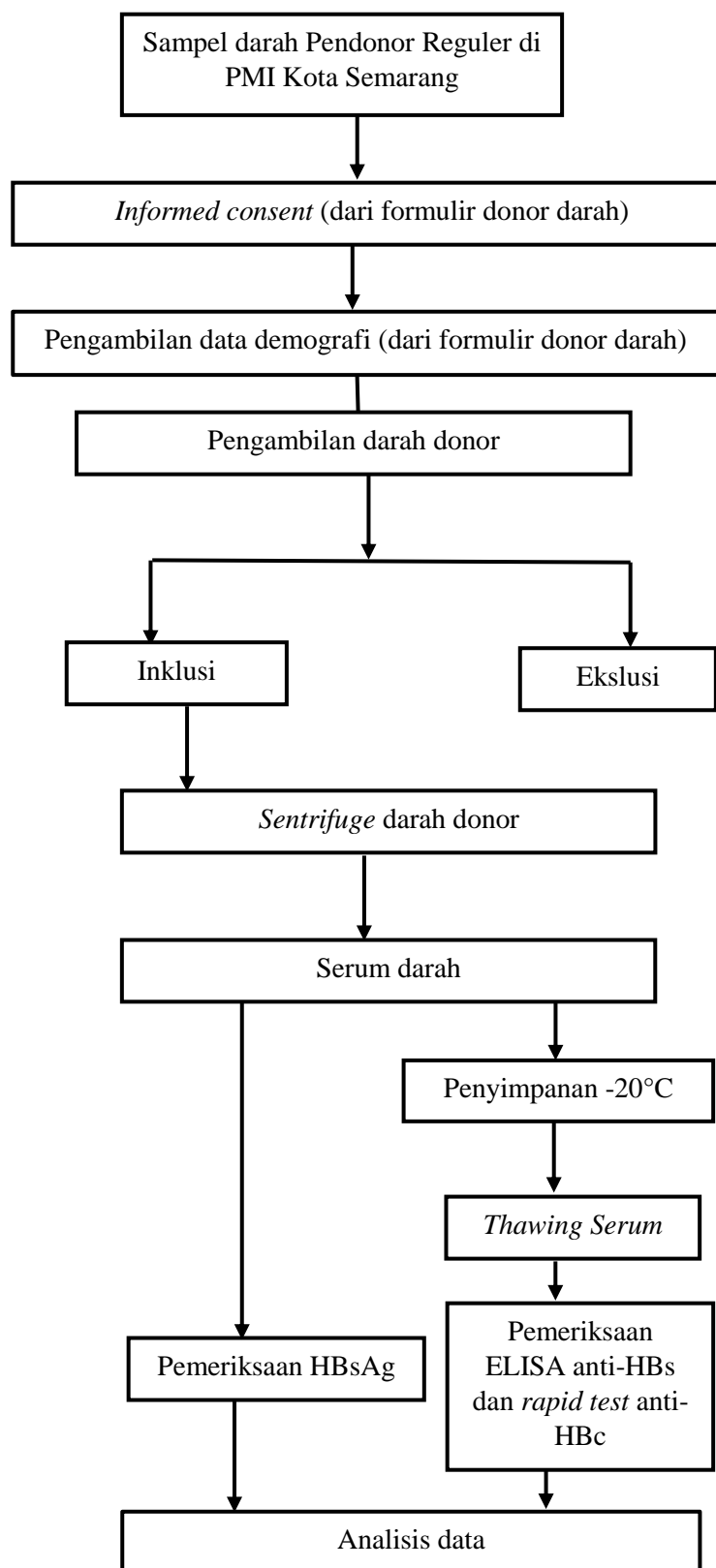
#### **3.7.4.3 Prosedur Pemeriksaan Sampel Darah**

- a. Mengumpulkan serum darah dari pendonor reguler sebanyak 1 ml.
- b. Menyimpan serum darah dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , kemudian diberi label data pendonor.
- c. Melakukan pemeriksaan kadar anti-HBs dengan menggunakan serum darah sebanyak 0,3 ml dari setiap pendonor reguler dengan menggunakan Wantai ELISA kit anti-HBs (kuantitatif). Pemeriksaan kit ini menggunakan metode ELISA *Sandwich* untuk mendeteksi adanya anti-HBs pada serum. Prinsip yang dipakai adalah terbentuknya kompleks ikatan imunologi antara HBsAg *precoated*, anti-HBs serum, dan HBsAg *conjugated to Horseradish Peroxidase* (HCP *conjugated*). Kompleks ikatan imunologi ini kemudian diberi larutan kromogen A dan B, dan larutan *stop solution* sehingga terbentuk larutan berwarna kuning yang mana intensitas warna yang dihasilkan akan diukur nilai absorbansinya. Nilai absorbansi larutan yang dihasilkan akan sebanding dengan kadar anti-HBs serum.

Prosedur lengkap pemeriksaan kadar anti-HBs dapat dilihat di lampiran 1.

- d. Melakukan pemeriksaan anti-HBc dengan menggunakan *One step Anti-HBc Rapid Test Cassette*. Prosedur pemeriksaan dan cara interpretasi dapat dilihat pada lampiran 2.

### 3.8 Alur Penelitian



**Gambar 1.** Alur Penelitian

### 3.9 Analisis Data

Data yang telah terkumpul akan diperiksa kelengkapan data, dan selanjutnya dilakukan koding, tabulasi serta dilakukan *entry* yaitu memasukkan data ke dalam aplikasi pengolah data SPSS di komputer, setelah itu dilakukan *editing* atau koreksi kelengkapan data. Data demografi (jenis kelamin, usia, dan pekerjaan), data hasil pemeriksaan HBsAg, anti-HBs dan anti-HBc akan dideskripsikan dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan diagram. Pengolahan data hasil penelitian akan dilakukan menggunakan program SPSS untuk mendapatkan gambaran demografi, kemudian dilakukan uji *Chi-square* untuk mengetahui kemaknaan hubungan antara jenis kelamin, usia, dan jenis pekerjaan terhadap kadar anti-HBs dan anti-HBc. Hubungan yang bermakna diperoleh bila nilai  $p < 0,05$ .

### 3.10 Etika Penelitian

Seluruh subjek penelitian akan diminta persetujuan dengan *informed consent* yang tertulis pada formulir donor darah PMI. Identitas pendonor akan dirahasiakan dan seluruh biaya yang berhubungan dengan penelitian ini akan menjadi tanggung jawab peneliti.

Ijin kegiatan penelitian ini meliputi *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr.Kariadi Semarang dengan nomor 312/ EC/ FK-RSDK/ V/ 2017, ijin penelitian dari kantor PMI Kota Semarang nomor 554/SK. Adm. UTD/ VII/ 2017, dan ijin penelitian dari Laboratorium GAKI FK Undip nomor 4580/ UN7.5.4/ PP/ 2017.