

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*, yaitu untuk mengetahui hubungan umur, obesitas dan lama terakhir vaksinasi dengan status Anti Hbs pada tenaga kesehatan di Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

Tempat Pengambilan sampel darah dilaksanakan di Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah dan pemeriksaan darah dilaksanakan di Laboratorium Imunoserologi RSUD Ahmad Yani Metro, Lampung.

2. Waktu

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret – April 2019.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah 42 orang tenaga kesehatan di Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah.

2. Sampel

Teknik pengambilan sampel penelitian menggunakan teknik *simple random sampling*, yaitu mengambil sampel secara acak tenaga kesehatan.

Sampel dalam penelitian ini adalah 30 serum tenaga kesehatan Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (*Variabel Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah umur, obesitas, dan lama terakhir vaksinasi pada tenaga kesehatan di Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah.

2. Variabel Terikat (*Variabel Dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah status Anti Hbs pada tenaga kesehatan di Puskesmas Suko Binangun, Lampung Tengah.

E. Definisi Operasional

1. Status *Hepatitis B Surface Antibody* (Anti Hbs)

Pengelompokkan status Anti Hbs berdasarkan titer Anti Hbs yang terbentuk. Serum akan diperiksa dengan alat Stat Fax® 303 Plus dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) lalu dilihat hasil titer Anti Hbs yang terbentuk.

Kategori status pada titer Anti Hbs sebagai berikut :

- a. ≤ 10 IU/l = tidak ada respon
- b. 10 - 100 IU/l = respon lemah
- c. ≥ 100 IU/l = respon kuat

Skala : Nominal

2. Umur

Pengelompokkan responden berdasarkan umur responden yang bekerja sebagai tenaga kesehatan dengan kategori sebagai berikut :

- a. 20-29 tahun
- b. 30-39 tahun
- c. 40-49 tahun

Skala : nominal

3. Obesitas

Obesitas keadaan dimana terjadi kelebihan berat badan. Indikator obesitas dengan penentuan indeks massa tubuh (IMT) yaitu indeks yang diperoleh dari pengukuran berat badan dengan menggunakan timbangan (kg) dan pengukuran tinggi badan (cm). perhitungan IMT yaitu berat badan dibagi tinggi pangkat dua.

- a. $\leq 25,00 \text{ kg/m}^2$ = tidak obesitas
- b. $\geq 25,00 \text{ kg/m}^2$ = obesitas

Skala : Nominal

4. Lama Terakhir Vaksinasi

Lama terakhir vaksinasi berdasarkan waktu terakhir tenaga kesehatan melakukan vaksinasi dengan kategori sebagai berikut :

- a. < 5 tahun
- b. 6-10 tahun
- c. 10 tahun

Skala : Nominal

F. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Kuesioner

Kuesioner merupakan suatu teknik pengumpulan data yang dilakukan dengan cara memberikan pertanyaan tertulis kepada responden untuk dijawab.

2. Instrumen Pengambilan Darah

Sput 3 cc, alcohol swab, tourniquet, hypafix, tabung clot activator kuning, rak tabung, handscoon, cooler box.

3. Instrumen Pemeriksaan Anti Hbs

ELISA Reader Stat Fax® 303 Plus, HBsAb ELISA Kit, aquabidest, microelisa Stripplate, mikropipet 50-100 ul, centrifuge, inkubator.

G. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Pengambilan Darah Vena

Pengambilan darah Menurut Riswanto (2013) :

- a. Pasien dilakukan pendekatan dengan tenang dan ramah, usahakan senyaman mungkin.
- b. Pasien diminta untuk duduk dengan tenang disamping meja yang dipakai sewaktu pengambilan darah. lengan bawah pasien diletakkan diatas meja, dengan telapak tangan menghadap ke atas.

- c. *Tourniquet* dipasang pada lengan atas, kira-kira 3-4 jari diatas lipat siku. Minta pasien mengepalkan tangannya supaya vena lebih kelihatan.
- d. Perabaan (*palpasi*) dilakukan dengan telunjuk kiri untuk memastikan posisi vena.
- e. Kulit didesinfeksi pada bagian yang akan diambil darah dengan *alcohol swab* 70% dan dibiarkan mengering.
- f. S spuit dengan *bevel* atau lubang jarum diposisikan menghadap ke atas. Lakukan pungsi vena dengan menusukkan jarum ke dalam lumen vena.
- g. Darah vena ditarik perlahan-lahan ke dalam spuit.
- h. *Tourniquet* dilepas dan teruskan penarikan darah vena ke dalam spuit sampai batas volume yang diperlukan yaitu ± 3 ml.
- i. Kapas yang bersih dan kering diletakkan diatas tempat penusukan lalu tarik jarum yang tertutupi kapas tersebut dengan mantap, lalu plester dengan *hypafix*.
- j. Darah dimasukkan kedalam *cooler box*.

2. Prosedur Koleksi Serum

- a. Darah vena diambil ± 3 ml dimasukkan ke dalam tabung *clot activator*.
- b. Darah dibiarkan dalam suhu kamar 10-15 menit sampai membeku
- c. Darah di *centrifuge* 3000 rpm selama 10 menit.
- d. Serum dengan sedimen dipisahkan, kemudian diberi label tanggal pengambilan, nama pasien, jenis kelamin dan jenis pemeriksaan.

3. Prosedur Kerja Pemeriksaan Anti Hbs

Prinsip pemeriksaan :

Pemeriksaan Anti Hbs ini menggunakan metode ELISA *sandwich* di mana strip *microwell polystyrene* yang telah dilapisi dengan HbsAg rekombinan pertama. Serum atau plasma ditambahkan ke *microwell* bersama-sama dengan HbsAg rekombinan kedua yang telah dikonjugasikan dengan *Horse Radish Peroxidase* (HRP- konjugat). HbsAg pertama akan menangkap Anti Hbs dalam sampel, kemudian kompleks imun tersebut akan mengikat HbsAg kedua (HRP-konjugat). Pencucian dimaksudkan untuk menghilangkan sampel dan HRP konjugat yang tidak terikat, kemudian larutan kromogen yang mengandung *Tetramethylbenzidine* (TMB) dan urea peroksida ditambahkan ke sumur. Kromogen yang tidak berwarna akan dihidrolisis oleh HRP konjugat sehingga menghasilkan produk berwarna biru, warna biru berubah menjadi kuning setelah reaksi dihentikan dengan asam sulfat. Jumlah intensitas warna dapat diukur dan sebanding dengan jumlah antibodi ditangkap disumur.

Cara kerja :

- a. **Preparation:** *Buffer wash solution* dibuat dengan perbandingan 1 bagian *wash solution* dan 20 bagian *aquabidest*.
- b. **Adding:** Ditandai enam sumur kebawah (A0) pada *microplate*, masukkan standard (0 mIU/ml, 20 mIU/ml, 40 mIU/ml, 80 mIU/ml, 160

mIU/ml) ke masing-masing sumur sebanyak 50 ul dimulai dari yang terendah.

- c. Serum dimasukkan masing-masing ke sumur *microplate* (A1-A4) sebanyak 50 ul.
- d. Ditambahkan HRP-*Conjugate* sebanyak 50 ul, lalu dihomogenkan.
- e. **Incubating:** Ditutup dengan *plate cover*, lalu di inkubasi selama 60 menit dengan suhu 37°C.
- f. **Washing:** Setelah inkubasi selesai, *microplate* diambil dari inkubator, buka *cover plate*. Lalu dicuci masing-masing sumuran 5 kali dengan buffer yang sudah diencerkan sebelumnya, biarkan 30-60 detik.
- g. **Coloring:** 50 ul chromogen A dan 50 ul chromogen B ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran, lalu diinkubasi selama 15 menit dengan suhu 37°C.
- h. **Stopping Reaction:** ditambahkan 50 ul *stop solution* ke dalam masing-masing sumuran, lalu dihomogenkan perlahan.
1. Pembacaan sampel pada *ELISA Reader Stat Fax® 303 Plus*.

Tujuan : untuk mengetahui konsentrasi *tech* pada *microplate* berdasarkan absorbansi sampel.

Prinsip : berdasarkan metode fotometri.

Cara kerja :

- a. Tombol power ditekan pada bagian belakang alat, alat akan melakukan cek secara otomatis dan layar utama akan muncul.
- b. Jenis pemeriksaan dipilih dengan menekan menu.

- c. Nomor pemeriksaan dipilih (nomor 2 untuk pemeriksaan Anti Hbs).
- d. *Microplate* sampel dimasukkan ke dalam *microplate* pembacaan di alat.
- e. Tombol enter ditekan, alat akan melakukan proses pembacaan.
- f. Hasil akan keluar secara otomatis pada layar dan pada kertas printer.
- g. Hasil pemeriksaan dicatat.

H. Teknik Pengumpulan Data

1. Teknik Sampling

Teknik sampling diambil menggunakan teknik *simple random sampling*, teknik ini dapat dilakukan karena populasi bersifat homogen.

I. Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. Pengolahan data

Pengolahan data penelitian diolah menggunakan aplikasi program SPSS 17.0.

b. Editing data

Data yang didapat diedit terlebih dahulu sebelum diolah. Proses mengedit suatu data berguna untuk memperbaiki kualitas data dan menghilangkan adanya keraguan.

c. Pengkodean data

Data yang telah dikumpulkan dilakukan proses pengkodean untuk memudahkan analisis. Data yang diperoleh diolah menggunakan komputer dengan aplikasi program SPSS 17.0.

d. Tabulasi

Tabulasi adalah proses memasukkan data kedalam tabel dan mengatur suatu angka yang digunakan untuk menghitung jumlah kasus dalam berbagai kategori.

2. Analisis Data

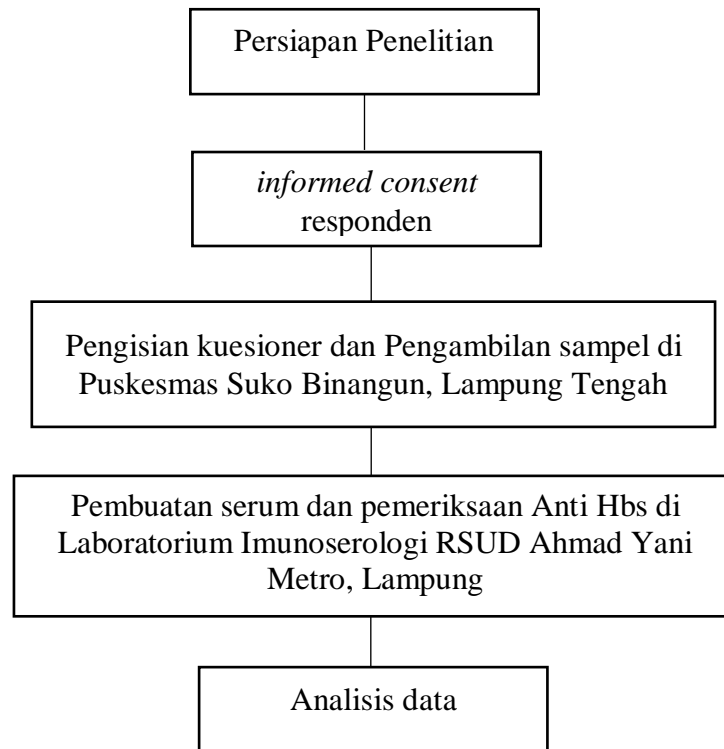
a. Analisis univariat

Analisis univariat merupakan analisis yang bertujuan untuk menjelaskan karakteristik masing-masing variabel yang diteliti.

b. Analisis bivariat

Adalah analisis untuk melihat hubungan 2 variabel atau lebih yang dilakukan dengan uji *chi square* untuk mengetahui:

- 1) Hubungan umur dengan status Anti Hbs pada tenaga kesehatan.
- 2) Hubungan obesitas dengan status Anti Hbs pada tenaga kesehatan.
- 3) Hubungan lama terakhir vaksinasi dengan status Anti Hbs pada tenaga kesehatan.

J. Alur Penelitian**Gambar 3. Alur penelitian**