

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini menggunakan *Survei Deskriptif* rancangan penelitian *Cross sectional* dengan melihat data sekunder gambaran hasil tes widal dan jenis leukosit.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi penelitian yaitu pada 716 pasien rawat inap dan rawat jalan penderita demam tifoid di Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru berdasarkan data periode januari 2023-februari 2024.

##### **3.2.2 Sampel**

Sampel penelitian adalah seluruh pasien demam tifoid dengan *Purposive Sampling* di Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru yang tercatat dalam data rekam medik, data hasil pemeriksaan serologi yaitu tes widal dan data hasil pemeriksaan hematologis darah lengkap dengan *Hematology analyzer* yaitu hitung jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit.

#### **3.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

##### **3.3.1 Variabel Penelitian**

Variabel pada penelitian ini adalah jenis leukosit pada penderita demam tifoid yang didapat pada pemeriksaan widal.

### 3.3.2 Definisi Operasional

**Tabel 3.1.** Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Karakteristik penderita demam tifoid	Karakteristik pasien berdasarkan usia produktif, jenis kelamin, dan titer widal pasien.	Data	Kategori: a. Usia b. Jenis Kelamin c. Titer Widal	Ordinal Nominal Nominal
2.	Test Widal	Tes Widal mendeteksi tingkat aglutinasi antibodi terhadap antigen O (somatik) dan antigen H (flagelar). Antibodi O biasanya terdeteksi sekitar hari ke 6-8 setelah timbulnya gejala demam tifoid, sedangkan antibodi H dapat diamati sekitar hari ke 10-12	Test Aglutinasi Widal	Kategori: Interpretasi hasil pemeriksaan test widal dianggap positif. Titer widal 1/160, Titer widal 1/320, Titer widal 1/640	Ordinal
3.	Hitung Jumlah Leukosit	Jumlah leukosit pada demam tifoid juga bisa normal yang diakibatkan oleh patogenesis dari demam tifoid itu sendiri.	<i>Hematology Analyzer</i>	sel/mm <sup>3</sup>	Rasio
4.	Hitung Jenis Leukosit	limfositosis relatif yang menjadi dugaan kuat diagnosis demam tifoid.	<i>Hematology Analyzer</i>	%	Rasio

### **3.4 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan adalah data sekunder hasil Rekam Medik yang didapatkan dari *Hematology Analyzer 5 Diff* dan pemeriksaan widal pada penderita Demam Tifoid.

### **3.5 Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Hematology Analyzer 5 Diff* dan pemeriksaan widal pada penderita Demam Tifoid.

### **3.6 Lokasi dan Waktu Pengambilan**

#### **3.6.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di wilayah kerja Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru.

#### **3.6.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2024.

### **3.7 Prosedur Pengambilan Data**

#### **3.7.1 Izin Penelitian**

- a. Diminta surat pengantar izin penelitian dari kampus Universitas Borneo Lestari
- b. Diminta surat izin penelitian ke Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru
- c. Surat balasan dikeluarkan dari pihak Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru beberapa hari setelah meminta surat izin penelitian

- d. Setelah surat balasan dikeluarkan, ke ruangan rekam medik untuk mengurus lembar persetujuan dan meminta tanda tangan kepala rekam medik
- e. Setelah didapatkan populasi dari demam tifoid pada tahun 2023 data yang diberikan diprint dan dilakukan penelitian
- f. Penelitian dilakukan di ruang filing rekam medik dan mencari data dengan cara me input No RM, tanggal masuk dan tanggal keluar
- g. Catat hasil pemeriksaan yang sesuai dengan variabel yang diteliti.

### **3.7.2 Teknik Pengumpulan Sampel**

Data rekam medik pasien penderita demam tifoid tahun 2023 di Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru.

### **3.7.3 Persiapan Sampel**

*Whole blood* ditampung dalam tabung K3 EDTA berwarna ungu dan tabung vacutainer berwarna merah.

### **3.7.4 Prosedur Kerja**

#### **a. Pengambilan Data Rekam Medik**

- 1) Diminta populasi data Demam Tifoid pada tahun 2023 kebagian rekam medik dengan membawa surat balasan dari pihak Rumah Sakit dan membawa surat pengantar dari kampus
- 2) Diberikan surat persetujuan dan meminta tanda tangan kepala rekam medik

- 3) Setelah data didapatkan, data dihitung dan di print sesuai dengan yang diarahkan
- 4) Lalu data tersebut dibawa ke ruang filing rekam medik untuk meminta hasil rekam medik pasien penderita demam tifoid
- 5) Data tersebut di input pada komputer satu persatu dan keluar hasil pemeriksaan pada pasien penderita demam tifoid
- 6) Catat hasil pemeriksaan yang sesuai dengan variabel yang dilakukan, data yang keluar di komputer tidak boleh di foto
- 7) Data didapatkan dihitung dan dimasukkan kedalam *excel*.

#### **b. Pengambilan Darah Vena**

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- 2) Disiapkan punksi dengan memilih tabung yang sesuai, memberi label pada tabung, persiapan alat dan bahan sebelum punksi
- 3) Disiapkan pasien dalam keadaan tenang, rileks dan kooperatif. Membersihkan tempat yang akan ditusuk dengan alkohol 70 % dan membiarkan kering.
- 4) Dipilih vena median cubiti, memasang ikatan pembendung pada lengan atas dan meminta pasien untuk mengepalkan tangan agar terlihat venanya.
- 5) Ditusuk vena dengan jarum, menarik jarum perlahan sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
- 6) Dilepas pembendung dan meletakkan kapas di atas jarum.

- 7) Dilepas jarum dari spuit dan mengalirkan ke dalam tabung vacutainer melalui dinding.
- 8) Di homogenkan darah pada tabung vacutainer (Rahmasari & Lestari, 2018).

#### **c. Pembuatan Serum**

- 1) Darah yang telah dimasukkan dalam tabung dibiarkan selama 10-20 menit
- 2) Darah disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit
- 3) Serum (bagian yang jernih) dipisahkan (Khasanah & Setiyawati, 2021).

#### **d. Cara Pemeriksaan Test Widal**

- 1) Tes Aglutinasi Slide

Berikut langkah-langkah melakukan tes Widal:

- a. Disiapkan enam slide uji Widal dan tandai lingkaran pada setiap slide.
- b. Diberi label pada lingkaran pada slide sebagai berikut: "H", "O", "A", "B", kontrol negatif (-), dan kontrol positif (+).
- c. Digunakan pipet Pasteur steril, masukkan satu tetes 20 µl serum murni ke dalam empat lingkaran pertama. Teteskan satu tetes serum kontrol positif (+) dan serum

- kontrol negatif (-) masing-masing pada lingkaran kelima dan keenam.
- d. Ditambahkan satu tetes antigen *Salmonella enterica* serotype typhi H (flagellar) pada lingkaran pertama, dan satu tetes antigen *Salmonella enterica* serotype typhi O (somatik) pada lingkaran kedua. Tambahkan satu tetes *Salmonella enterica* serotype paratyphi antigen A pada lingkaran ketiga, dan satu tetes *Salmonella enterica* serotype paratyphi antigen B pada lingkaran keempat.
  - e. Ditambahkan satu tetes antigen *Salmonella enterica* serotype typhi H (flagellar) pada lingkaran kelima dan keenam.
  - f. Digunakan stik aplikator terpisah untuk setiap lingkaran, campurkan serum dan antigen secara menyeluruh hingga menutupi seluruh permukaan lingkaran
  - g. Ditempatkan slide pada rotator dan putar selama satu menit
  - h. Diamati setiap slide untuk aglutinasi makroskopis. Jika aglutinasi terjadi ketika 20 l serum dan satu tetes antigen dicampur, titernya dicatat 1:80. Lanjutkan dengan pengenceran dengan mencampurkan 10 µl

serum dengan satu tetes antigen. Jika aglutinasi masih terjadi maka titernya menjadi 1:160.

- i. Dilanjutkan pengenceran sampai aglutinasi tidak terjadi lagi. Pengenceran tertinggi yang menunjukkan aglutinasi dicatat sebagai titer akhir. Langkah-langkah ini menguraikan prosedur pelaksanaan tes Widal untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen *Salmonella* spesifik dalam sampel serum.

## 2) Tes Aglutinasi Tabung

Serum pasien mengalami pengenceran ganda serial, biasanya berkisar antara 1:10 hingga 1:640 pada seri pertama hingga keempat. Seri pertama biasanya menggunakan tabung Felix, sedangkan seri berikutnya menggunakan tabung *Dreyer's*. Berikut cara kerja uji aglutinasi tabung:

- a. Diambil tabung Felix sejumlah 8 buah dan susun pada deretan pertama.
- b. Disusun 24 tabung *Dreyer's* melintang pada baris kedua, ketiga, dan keempat, dengan 8 tabung pada setiap baris. Diberi label 1-8 pada masing masing tabung di tiap deret (deret 1-4) untuk deteksi antibodi O, H, AH, dan BH.
- c. Dimasukkan 0,1 ml larutan salin isotonik pada tabung no 1 di masing masing deret (deret 1-4).

- d. Sedangkan untuk tabung sisanya (tabung no 2-8) pada tiap deret dimasukkan larutan salin isotonik sejumlah 0,5 ml.
- e. Kemudian untuk semua tabung no 1 pada tiap deretan ditambahkan 0,9 ml sampel serum pasien untuk dilakukan pengetesan dan pencampuran.
- f. Dipindahkan 0,5 ml serum dilusi dari tabung no 1 ke tabung no 2 dan kemudian dilakukan pencampuran pada tabung no 2.
- g. Dipindahkan 0,5 ml serum yang telah diencerkan dari tabung no 2 ke tabung no 3, lalu aduk rata dalam tabung no 3. Lanjutkan proses pengenceran ini secara berurutan hingga tabung no 7 pada setiap rangkaiannya. Dibuang 0,5 ml serum dilusi pada tabung no 7 di setiap deret.
- h. Tabung no 8 pada setiap deret digunakan sebagai control salin.
- i. Sekarang dilusi yang sudah dicapai pada sampel serum di tiap tabung pada deret 1-4 adalah sebagai berikut:

**Tabel 3.2. Dilusi Tabung**

Tabung	Dilusi
1	1:10
2	1:20
3	1:40
4	1:80
5	1:160
6	1:320
7	1:640
8	1:1280

- j. Selanjutnya, ditambahkan satu tetes suspensi antigen uji Widal (O, H, AH, BH) dari vial reagen ke semua tabung (tabung nomor 1-8) pada setiap baris, lalu aduk rata. Langkah ini menyelesaikan pengenceran sampel serum di setiap tabung pada seri 1-4. Ditutup semua tabung di setiap deretan dan diinkubasi pada temperatur 37 derajat C semalam (kurang lebih 18 jam).
- k. Kemudian lakukan observasi untuk melihat ada tidaknya aglutinasi makroskopis.

#### **e. Hitung Jumlah Leukosit (Manual)**

- 1). Mengisi Pipet Leukosit
  - a. Dipipet EDTA sampai tanda 0,5 tepat dengan pasien thoma leukosit dan dengan bantuan selang penghisap.
  - b. Dihapus kelebihan darah dari dinding luar menggunakan tisu.

- c. Dihisap larutan turk perlahan sampai tanda 11 tanpa ada gelembung.
- d. Ditutup ujung pipet dengan ujung jari dan lepaskan selang.
- e. Dikocok pipet 15-30 detik, jika tidak segera digunakan letakkan pipet secara horizontal.

## 2). Mengisi Kamar Hitung

- a. Dibersihkan kamar hitung dan kaca penutup.
- b. Diletakkan kamar hitung dan penutup secara mendatar.
- c. Dikocok pipet leukosit yang telah bercampur dengan darah EDTA selama 3 menit terus menerus dan hindari terbuangnya cairan saat pengocokan.
- d. Dibuang 3-4 tetes pertama dan sentuhkan ujung pipet dengan sudut 30 derajat pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggiran kaca penutup. Biarkan hingga terisi perlahan dengan daya kapilaritasnya.
- e. Didiamkan kamar hitung selama 2-3 menit agar leukosit mengendap.

## 3). Menghitung Jumlah Sel

- a. Diposisikan kamar hitung dibawah lensa kecil, turunkan kondensor, dan kecilkan diafragma untuk memperoleh cahaya yang diinginkan.
- b. Dihitung semua leukosit yang ada di empat bagian besar.

**f. Pemeriksaan Menggunakan Hematology Analyzer**

- a. Dinyalakan UPS (*Uninterruptible Power Supply*)
- b. Dinyalakan komputer
- c. Dimasukkan *password* : SYSMEX
- d. Alat akan background check dengan sendirinya sampai *Ready* lampu berwarna hijau.
- e. Analisa QC (*Quality Control*)
  - 1) Klik manual
  - 2) Klik QC
  - 3) Pilih *QC file* yang akan dijalankan lalu klik OK
  - 4) Homogenisasikan Control E-check (level 1, level 2, level 3)
  - 5) Tempatkan pada aspiration dan tekan *START*
  - 6) Hasil analisa akan tampil, bila nilai berwarna merah maka hasil QC keluar dari batas. Bila QC masuk tekan *Accept*
- f. Analisa Sampel
  - 1) Klik menu *work list*
  - 2) Klik menu *register*, masukan data pasien, klik OK
  - 3) Klik menu *manual*, masukan nomor sampel d. Klik OK setelah di set
  - 4) Disiapkan sampel, alat akan mengambil sampel sebanyak 20 ul

- 5) Dimasukan ke dalam aspiration port kemudian tekan tombol Start, maka lampu hijau akan berkedip dan tunggu beberapa detik lalu tarik sampel.
- 6) Alat akan bekerja dengan sendirinya dan hasil akan terprint

### **3.8 Pengumpulan Data**

#### **3.8.1 Data Sekunder**

Data rekam medik pasien Demam Tifoid tahun 2023 hasil pemeriksaan tes widal, hitung jumlah leukosit, dan hitung jenis leukosit pada pasien. yang didapatkan dari Rumah Sakit Daerah Idaman Banjarbaru.

### **3.9 Cara Pengolahan dan Analisa Data**

#### **3.9.1 Pengolahan Data**

Data yang didapatkan dari hasil rekam medik pasien penderita demam tifoid yaitu hasil tes widal, hitung jumlah leukosit, dan hitung jenis leukosit. Data hitung jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit akan dijadikan nilai absolut dan di *input* kedalam *excel*.

#### **3.9.2 Analisis Data**

Analisis data berdasarkan hasil penelitian dilakukan uji statistik dengan menggunakan *Distribusi Frekuensi* dan *Tendensi sentral* untuk mengetahui nilai *mean*, *min* dan *max* hasil tes widal

dengan jenis dan jumlah leukosit pada pasien penderita demam tifoid.