

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional analitik untuk mengetahui adanya hubungan antara jumlah neutrofil dengan kadar C Reaktif Protein.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah anak-anak yang mengalami gejala febris yang bersifat secara periodik dan persisten dan belum mendapat pengobatan medis yang diperiksa jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein di laboratorium Rumah Sakit Bhayangkara Kediri. Pelaksanaan penelitian dimulai pada tanggal 26 Juni sampai tanggal 30 Juni 2012.

3.2.2 Sampel penelitian

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik selektif sampling, yaitu dipilih sample yang memenuhi subyek kriteria sampel. Didapatkan sejumlah 30 sampel.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dan pemeriksaan dilakukan di Rumah Sakit Bhayangkara Kediri dan waktu penelitian dimulai pada bulan Februari sampai dengan bulan Juli 2012.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein, sedangkan variabel bebas adalah pasien febris.

3.4.2 Definisi Operasional

1. Jumlah neutrofil adalah keterangan yang menunjukkan jumlah neutrofil berdasarkan kategori kurang dari normal, bila jumlah neutrofil kurang dari 25%, normal bila jumlah neutrofil 25 sampai 60%, dan lebih dari normal bila jumlah neutrofil mencapai lebih dari 60% dari jumlah total leukosit di dalam darah dan diperiksa menggunakan alat automatic analyzer dengan satuan %. Nilai normal untuk anak-anak dari pemeriksaan ini adalah 25-60% (Heil et al, 2004)
2. Kadar C Reaktif Protein adalah keterangan yang menunjukkan kandungan C Reaktif Protein berdasarkan kategori normal bila kadar C Reaktif Protein kurang dari 5 mg/l dan abnormal bila kadar C Reaktif Protein melebihi atau sama dengan 5 mg/l dalam darah yang diperiksa menggunakan metode sandwich immunometri dengan mengukur intensitas warna menggunakan nycocard Reader dengan satuan mg/l. Kadar normal dari pemeriksaan ini adalah < 5 mg/l (Heil et al, 2004).
3. Febris adalah keterangan yang menunjukkan kondisi adanya kenaikan suhu tubuh yang bersifat episodik atau persisten diatas nilai normal. Diperiksa menggunakan termometer dengan satuan °C. Pada sebagian

besar individu tanpa peduli iklim maupun rasnya, suhu tubuh normal bervariasi antara 36 – 37,5°C (Mattingly dan Seward, 1993).

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein yang diperoleh dengan mengerjakan dan mengumpulkan 30 data pasien yang mengalami gejala febris dan belum mendapat pengobatan, yang berobat di Unit Gawat Darurat Rumah Sakit Bhayangkara Kediri.

Pemeriksaan jumlah neutrofil di Laboratorium RS. Bhayangkara Kediri menggunakan alat Hematology Counter Sysmex KX-21.

Pemeriksaan kadar C Reaktif Protein di Laboratorium RS. Bhayangkara Kediri menggunakan alat Nycocard Reader.

Tahap pengumpulan data jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein adalah sebagai berikut :

1. Mengidentifikasi pasien yang mengalami gejala febris dari gejala yang tercatat pada surat permintaan pemeriksaan laboratorium untuk menjangkau kriteria populasi yaitu anak-anak.
2. Mencatat identitas pasien yang terseleksi, beserta hasil pemeriksaan jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein
3. Membuat tabulasi hasil pengumpulan data, seperti contoh tabel berikut:

Tabel 3.1 : Contoh tabel hasil pemeriksaan jumlah neutrofil dan kadar C Reaktif Protein.

Kode sampel	Jumlah Neutrofil (%)	Kadar CRP (mg/l)
1		
2		
3		
4		
5		
26		
27		
28		
29		
30		

3.6 Pemeriksaan Jumlah Neutrofil menggunakan alat Sysmex KX-21

3.6.1 Prinsip

Menggunakan prinsip impedansi elektrik. Sampel disuspensikan ke dalam sejumlah cairan konduktif secara elektrik. Dengan adanya suatu sistem hidrodinamik, sel-sel ini diatur sedemikian rupa melewati sejumlah celah (aperture) satu demi satu yang akan membentuk suatu signal. Jumlah signal yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang melewati aperture tersebut. Dan besar signal yang terbentuk akan menggambarkan seberapa besar volume sel tersebut. Hasil pengukuran sel-sel ini akan dikelompokkan berdasarkan rangenya

sehingga akan menggambarkan berapa banyak jumlah sel yang terdapat di dalam sampel.

Sample : Darah dengan antikoagulan EDTA.

3.6.2 Prosedur

1. Mengecek semua reagensia dan tempat pembuangan limbah.
2. Mengecek status alat apakah dalam keadaan ready.
3. Menyiapkan sampel darah EDTA
4. Melakukan order terlebih dahulu pada menu worklist.
5. Meletakkan sampel yang sudah dihomogenisasi pada sample probe.
6. Membuka penutup sampel, memasukkan kedalam aspirate pipet kemudian menekan tombol start sampai terdengar bunyi beep, kemudian menarik sampel.
7. Menunggu sampai alat selesai melakukan proses pemeriksaan, dan mencatat hasilnya di lembar kerja.

3.6.3 Hal-hal Yang Mempengaruhi Hasil

1. Pengambilan sampel yang tidak benar, sehingga terdapat bekuan.
2. Sampel tidak di homogenisasi terlebih dahulu.
3. Reagen yang terkontaminasi atau rusak.
4. Aliran listrik yang tidak stabil sehingga berpengaruh pada alat.

3.7 Pemeriksaan CRP menggunakan alat Nycocard Reader

3.7.1 Prinsip Parameter CRP

Menggunakan metode sandwich immunometri. Test Device yang telah dilapisi Antibodi CRP. Saat sampel di masukkan ke dalam device, bila

mengandung CRP akan terjadi ikatan CRP-Antibodi spesifik monoklonal + CRP. Kemudian ditambahkan conjugate pada ikatan kompleks ini sehingga terbentuk warna. Antibodi bebas akan dihilangkan dengan penambahan washing pada reaksi berikutnya. Warna yang terbentuk pada device sebanding dengan kadar CRP.

Sampel: Plasma EDTA, Serum, Darah dengan antikoagulan EDTA.

3.7.2 Prinsip Alat Nycocard Reader

Menggunakan metode Nefelometri yaitu pengukuran yang berdasarkan intensitas berkas cahaya yang direfleksikan. Hal-hal yang berpengaruh pada metode ini, antara lain :

- Ukuran partikel
- Panjang gelombang
- Jarak pengukuran
- Konsentrasi partikel
- Berat Molekul partikel

3.7.3 Prosedur kerja

1. Suhu kamarkan semua reagen terlebih dahulu.
2. Masukkan 5 µl sampel kedalam R1 / Dilution Liquid. Kocok ± 10 detik.
Larutan sampel harus diperiksa dalam 1 jam.
- 3 Tambahkan 50 µl sampel yang telah dilarutkan ke dalam test device.
Biarkan meresap sempurna ± 30 detik.
- 4 Tambahkan 1 tetes R2 / Conjugate ke dalam test device. Biarkan meresap sempurna ± 30 detik. Antara step 4 dan 5 tidak boleh lebih dari 2 menit.

- 5 Tambahkan 1 tetes R3 / Washing Solution kedalam test device. Biarkan meresap sempurna \pm 20 detik. Jarak waktu antara step 5 dan 6 tidak boleh lebih dari 2 menit.
- 6 Baca menggunakan alat Nycocard Reader kurang dari 5 menit, Tepatkan pen reader pada bagian tengah test device. Berkas cahaya akan muncul otomatis ketika pen reader ditekan, alat akan menghitung secara otomatis beberapa detik dan mengeluarkan hasil berupa angka yang merupakan konsentrasi dari parameter.

3.7.4 Hal-hal Yang Mempengaruhi Hasil

1. Nilai Hematokrit yang tinggi.
2. Pemipetan yang kurang tepat.
3. Waktu pengerjaan yang kurang tepat.

3.8 Analisis Data

Untuk mengetahui apakah ada hubungan antara jumlah neutrofil dengan kadar C Reaktif Protein digunakan uji korelasi chi square.