

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah Observasional Analitik yaitu untuk mengetahui hubungan antara nilai MCV dengan ukuran morfologi eritrosit rata-rata pada hapusan darah tepi pasien Gagal Ginjal Kronik.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini ialah seluruh pasien Gagal Ginjal Kronik yang menjalani pemeriksaan Darah Lengkap dan Hapusan Darah Tepi pada bulan Januari hingga Mei di Laboratorium Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebanyak 45 pasien.

3.2.2 Sampel Penelitian

Dengan menggunakan teknik sampling jenuh, maka sampel dalam penelitian ini ialah seluruh jumlah populasi yaitu pasien Gagal Ginjal Kronik yang memeriksakan Darah Lengkap dan Hapusan Darah Tepi pada bulan Januari hingga Mei di Laboratorium Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebanyak 45 pasien, yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

A. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subjek penelitian dari suatu populasi target yang terjangkau akan diteliti (Nursalam, 2003). Dalam penelitian ini, kriteria inklusi dari sampel diperoleh berdasarkan dari keterangan petugas poli

hemodialisa RSUD Dr. Soetomo Surabaya, sebagai berikut:

- 1 Pasien Gagal Ginjal Kronik yang sudah mengalami cuci darah di Poli Hemodialisa RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- 2 Pasien dengan keluhan :
 - a. Terasa sakit saat buang air kecil disertai warna urine yang pekat
 - b. Terjadi pembengkakan pada bagian tubuh tertentu seperti kaki, pergelangan kaki, wajah, atau tangan.
 - c. Pasien mengeluh cepat lelah walaupun melakukan aktivitas yang ringan.
 - d. Pasien merasakan sakit atau nyeri di sekitar pinggang.
 - e. Menderita tekanan darah tinggi, nyeri dada disertai sesak nafas.
- 3 Hasil Laboratorium :
 - a. Pemeriksaan urine : volume urine <400 ml/24 jam, BJ urine <1.015, Osmolaritas : < 350 mOsm/Kg, Kreatinin Kliren agak menurun, Natrium : > 40 mEq/L, protein urine +3 hingga +4, hematuria, serta lekosituria.
 - b. Pemeriksaan darah : Kadar BUN mencapai 10 mg/dl, kreatinin serum meningkat 2 kali lipat dari nilai normal, hemoglobin < 8 g/dl, retikulositopeni, LED meningkat, bikarbonat 15-25 mmol/liter, magnesium dan fosfat meningkat, Protein dan kolesterol menurun, trigliserida tinggi, glukosa darah tinggi.
 - c. Penurunan Laju filtrasi glomerulus < 60 ml/menit/1,73m² selama 3 bulan.

B. Kriteria Eklusi

Kriteria eklusi adalah kriteria dalam subjek penelitian yang tidak dapat dijadikan sampel karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel penelitian karena berbagai sebab (Nursalam, 2003). Dalam penelitian ini, kriteria eklusi dari sampel yaitu :

- a. Pasien dengan diagnosis Gagal Ginjal dari dokter ahli penyakit dalam namun masih dapat melakukan aktivitas sehari-hari.
- b. Pasien yang belum pernah menjalani cuci darah di poli hemodialisa RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- c. Pasien dengan gejala yang hampir sama dengan pasien GGK namun hasil laboratorium masih dalam kategori normal.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini adalah di Laboratorium Sampling dan Laboratorium Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Juli 2012.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel penelitian

Variabel Bebas : Nilai MCV

Variabel Terikat : Ukuran Morfologi Eritrosit Rata-rata pada Hapusan Darah Tepi.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

A. Nilai MCV diperoleh dari pemeriksaan darah lengkap penderita Gagal Ginjal Kronik menggunakan alat Cell-Dyn Ruby Hematology Automatic Analyzer dengan satuan Femtoliter (fL), dengan kategori :

1. Tinggi : Apabila pada pemeriksaan darah lengkap sampel penderita Gagal Ginjal Kronik didapat nilai MCV >96,0 fL.
2. Normal : Apabila pada pemeriksaan darah lengkap sampel penderita Gagal Ginjal Kronik didapat nilai MCV berada dalam rentang 81,1-96,0 fL.
3. Rendah : Apabila pada pemeriksaan darah lengkap sampel penderita Gagal Ginjal Kronik didapat nilai MCV <81,1 fL.

B. Ukuran Morfologi Eritrosit Rata-rata

Diperiksa dari sediaan hapusan darah tepi penderita Gagal Ginjal Kronik dengan menggunakan metode pengecatan wright lalu diperiksa ukuran morfologi eritrosit rata-rata dengan kategori :

1. Makrositik : Apabila pada sediaan hapusan darah ditemukan ukuran eritrosit lebih besar daripada ukuran eritrosit normal.
2. Normositik : Apabila pada sediaan hapusan darah ditemukan ukuran eritrosit normal.

3. Mikrositik : Apabila pada sediaan hapusan darah ditemukan ukuran eritrosit lebih kecil daripada ukuran eritrosit normal.

3.5 Metode pengumpulan Data

3.5.1 Data Pasien Gagal Ginjal Kronik

Data pasien Gagal Ginjal kronik dikumpulkan berdasarkan data penerimaan sampel dari Poli Hemodialisa yang dicatat oleh petugas penerimaan sampel di Ruang Sampling Laboratorium Patologi Klinik GDC RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

3.5.2 Data Nilai MCV

Data Nilai MCV dikumpulkan berdasarkan Data Sekunder yang diperoleh dari Alat Cell-Dyn Ruby Hematology Automatic Analyzer di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Prinsip Pemeriksaan Sampel

1. Pengumpulan Sampel

- A. Persiapan Pra Analitik

- 1) Pasien :

Untuk pasien yang melakukan pemeriksaan Gula darah Puasa, maka persiapannya harus puasa selama 8-10 jam sebelum dilakukan pengambilan sampel darah. Selain itu juga, pasien ditanya apakah mengkonsumsi obat-obatan tertentu. Karna, obat-obatan tertentu kemungkinan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan sampel pasien. Sehingga dokter dapat mengkonfirmasi apabila terjadi abnormalitas hasil.

2) Alat yang diperlukan :

- a. Kapas alkohol 70 %
- b. Torniquet (tali pembendung)
- c. Spuit 3 cc, 5 cc, 10 cc
- d. Holder
- e. Kapas kering
- f. Selotipe
- g. Tabung vacutainer tutup ungu : Tabung ini berisi EDTA.

Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap.

3) Analitik

1. Prosedur sampling darah vena dengan menggunakan spuit :

- a. Persiapkan alat-alat yang diperlukan : syring, kapas alkohol 70%, tali pembendung (turniket), plester, dan tabung. Untuk pemilihan syring, pilihlah ukuran/volume sesuai dengan jumlah sampel yang akan diambil, pilih ukuran jarum yang sesuai, dan pastikan jarum terpasang dengan erat.
- b. Lakukan pendekatan pasien dengan tenang dan ramah; usahakan pasien nyaman mungkin.
- c. Identifikasi pasien dengan benar sesuai dengan data di lembar permintaan.
- d. Verifikasi keadaan pasien, misalnya puasa atau konsumsi obat. Catat bila pasien minum obat tertentu, tidak puasa dsb.
- e. Siapkan tabung vacutainer yang akan dipergunakan, dan beri identitas pasien pada tabung tersebut.

- f. Minta pasien meluruskan lengannya, pilih lengan yang banyak melakukan aktifitas.
- g. Minta pasien mengepalkan tangan.
- h. Pasang tali pembendung (turniket) kira-kira 10 cm di atas lipat siku.
- i. Pilih bagian vena *median cubital* atau *cephalic*. Lakukan perabaan (palpasi) untuk memastikan posisi vena; vena teraba seperti sebuah pipa kecil, elastis dan memiliki dinding tebal. Jika vena tidak teraba, lakukan pengurutan dari arah pergelangan ke siku, atau kompres hangat selama 5 menit daerah lengan.
- j. Bersihkan kulit pada bagian yang akan diambil dengan kapas alkohol 70% dan biarkan kering. Kulit yang sudah dibersihkan jangan dipegang lagi.
- k. Tusuk bagian vena dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas. Jika jarum telah masuk ke dalam vena, akan terlihat darah masuk ke dalam semprit (dinamakan *flash*). Usahakan sekali tusuk kena.
- l. Setelah volume darah dianggap cukup, lepas turniket dan minta pasien membuka kepalan tangannya. Volume darah yang diambil kira-kira 3 kali jumlah serum atau plasma yang diperlukan untuk pemeriksaan.

- m. Letakkan kapas di tempat suntikan lalu segera lepaskan/tarik jarum. Tekan kapas beberapa sat lalu plester selama kira-kira 15 menit. Jangan menarik jarum sebelum turniket dibuka.
- n. Masukkan spuit yang berisi sample darah pasien ke dalam tabung vacutainer tutup ungu, homogenkan agar darah tercampur rata dengan antikoagulan EDTA.
- o. Siap dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan alat automatic hematology analyzer.

(berdasarkan SOP sampling darah vena di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya).

2. Prosedur sampling darah vena dengan menggunakan Holder :

- a. Persiapkan alat-alat yang diperlukan : jarum, kapas alkohol 70%, tali pembendung (turniket), plester, tabung vakum.
- b. Pasang jarum pada holder, pastikan terpasang erat.
- c. Lakukan pendekatan pasien dengan tenang dan ramah; usahakan pasien nyaman mungkin.
- d. Identifikasi pasien dengan benar sesuai dengan data di lembar permintaan.
- e. Verifikasi keadaan pasien, misalnya puasa atau konsumsi obat. Catat bila pasien minum obat tertentu, tidak puasa dsb.
- f. Siapkan tabung vacutainer yang akan dipergunakan, dan beri identitas pasien pada tabung tersebut.
- g. Minta pasien meluruskan lengannya, pilih lengan yang banyak melakukan aktifitas.

- h. Minta pasien mengepalkan tangan.
- i. Pasang tali pembendung (turniket) kira-kira 10 cm di atas lipat siku.
- j. Pilih bagian vena *median cubital* atau *cephalic*. Lakukan perabaan (palpasi) untuk memastikan posisi vena; vena teraba seperti sebuah pipa kecil, elastis dan memiliki dinding tebal. Jika vena tidak teraba, lakukan pengurutan dari arah pergelangan ke siku, atau kompres hangat selama 5 menit daerah lengan.
- k. Bersihkan kulit pada bagian yang akan diambil dengan kapas alkohol 70% dan biarkan kering. Kulit yang sudah dibersihkan jangan dipegang lagi.
- l. Tusuk bagian vena dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas. Masukkan tabung ke dalam holder dan dorong sehingga jarum bagian posterior tertancap pada tabung, maka darah akan mengalir masuk ke dalam tabung. Tunggu sampai darah berhenti mengalir. Jika memerlukan beberapa tabung, setelah tabung pertama terisi, cabut dan ganti dengan tabung kedua, begitu seterusnya.
- m. Lepas turniket dan minta pasien membuka kepalan tangannya. Volume darah yang diambil kira-kira 3 kali jumlah serum atau plasma yang diperlukan untuk pemeriksaan.
- n. Letakkan kapas di tempat suntikan lalu segera lepaskan/tarik jarum.

- o. Tekan kapas beberapa sat lalu plester selama kira-kira 15 menit. Jangan menarik jarum sebelum turniket dibuka.
- p. Siap dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan alat automatic hematology analyzer.

(berdasarkan SOP sampling darah vena di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya).

2. Pemeriksaan Sampel pada alat **Cell-Dyn Ruby Hematology Automatic Analyzer**

A. Menyalakan alat dengan posisi switch power ON

- 1. Tekan agak lama switch power Data Module (sebelah kanan alat)
- 2. Jika analyzer dalam keadaan **Uninitialized**, tekan **F12-Init** untuk inialisasi
- 3. Jika analyzer dalam keadaan **Initialized**, tekan **F12-Prime** untuk priming dan run auto background
- 4. Pastikan background masuk dalam range

WBC (WOC & NOC) $\leq 0,10 \times 10^3/uL$

RBC $\leq 0,02 \times 10^6/uL$

HGB $\leq 0,10 \text{ g/dL}$

PLT $\leq 5,00 \times 10^3/uL$

RETC $\leq 100 \text{ counts}$

B. Menyalakan alat dalam posisi switch power OFF

- 1. Nyalakan system switch power OFF di belakang alat, layar monitor, printer, switch data module (sebelah kanan alat)

2. Jika analyzer dalam keadaan **Uninitialized**, tekan **F12-Init** untuk inialisasi
3. Jika analyzer dalam keadaan **Initialized**, tekan **F12-Prime** untuk priming dan run auto background
4. Pastikan background masuk dalam range

WBC (WOC & NOC) $\leq 0,10 \times 10^3/\mu\text{L}$

RBC $\leq 0,02 \times 10^6/\mu\text{L}$

HGB $\leq 0,10 \text{ g/dL}$

PLT $\leq 5,00 \times 10^3/\mu\text{L}$

RETC $\leq 100 \text{ counts}$

C. Mematikan alat

1. Pilih **File** kemudian shutdown
2. Pilih **OK** untuk konfirmasi shutdown

D. Standby alat

1. Dari layar **Maintenance** pilih **Special Protocols**
2. Pilih tombol **Standby**

E. Run Background (open mode)

1. Dalam menu **Next Open Tube Entry**, pilih **Background** dari menu **Speciment ID** atau **QCID**
2. Tekan Touch Plate untuk memulai run background
3. Pastikan background masuk dalam range sebelum run control dan pasien

F. Run Background (Closed Mode)

1. Pasang label barcode Background QCID pada tabung vakum

2. Letakkan tabung tersebut pada rak sample loader dan tempatkan rak tersebut pada load side sample loader
3. Pilih **F12-Start Loader**
4. Setelah proses selesai, pastikan nilai background masuk range

G. Run Pasien (Open Mode)

1. Pastikan alat dalam keadaan **Ready** dan **Open Mode**, pilih **F11-Select Open** untuk mengubah dari **Closed mode**
2. Masukkan data pasien di bagian **Speciment ID QCID**
3. Pilih test dari menu drop-down
4. Pilih tombol **More Spec Info** untuk memastikan, menambah, atau mengubah informasi demografi pada box dialog **Next Open Tube Entry (Detailed)**
5. Buka tabung sample dan tempatkan di bawah probe Open Mode
6. Tekan Touch Plate untuk aspirasi sample
7. Hasil pasien akan masuk ke datalog dan terpampang di layar
Run

H. Run Pasien (Closed Mode)

1. Pastikan alat dalam keadaan **Ready** dan **Closed Mode**
2. Pilih **F11-Start Loader**
3. Sample Loader akan memproses otomatis sampelnya
4. Jika akan memberhentikan sample loader maka pilih **F12-Stop Loader**
5. Rak terakhir akan bergerak ke bagian unload sample Loader jika proses sudah selesai

6. Hasil pasien akan masuk ke datalog dan terpampang di layar
Run
(berdasarkan SOP Cell-Dyn Ruby Hematology Automatic Analyzer
di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya).

3.5.3 Data Ukuran Morfologi Eritrosit Rata-rata

Data Ukuran Morfologi Eritrosit rata-rata dikumpulkan berdasarkan observasi melalui pemeriksaan terhadap hapusan darah tepi penderita Gagal Ginjal Kronik untuk mencari morfologi eritrosit rata-rata yang diperiksa serta diwewenangi oleh dokter yang bertugas di laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

1. Prosedur pembuatan hapusan darah tepi
 - A. Alat dan Bahan
 - 1) Lanset
 - 2) Glass Objek
 - 3) Mikroskop
 - 4) Pulasan Giemsa
 - 5) Pulasan Wright
 - 6) Kapas Alkohol
 - B. Cara Kerja
 - 1) Membuat Sediaan Hapusan Darah Glass objek yang dipakai harus kering, bebas debu dan bebas minyak.
 - 2) Untuk menggeserkan darah pada kaca itu pakailah glass objek yang lain yang sisi pendeknya rata sekali.

- 3) Sentuhlah tanpa menyentuh kulit setetes darah kecil (garis tengah tidak memiliki 2mm) dengan kaca itu kira-kira 2cm dari ujung, letakkan kaca itu diatas meja dengan tetes darah disebelah kanan.
- 4) Dengan tangan kanan diletakkan kaca objek lain di sebelah kiri tetes darah tadi dan digerakkan ke kanan hingga mengenai tetes darah.
- 5) Tetes darah akan menyebar pada sisi kaca penggeser tunggulah sampai darah mencapititik kira-kira $\frac{1}{2}$ cm dari sudut kaca penggeser.
- 6) Segeralah gerakkan kaca itu ke kiri sambil memegang miringnya dengan sudut antara 30-40 derajat, janganlah menekan kaca penggeser itu kebawah, tebal tipisnya sediaan tergantung pada kecepatan menggeser makin kecil sudut makin tipis sediaan, makin lambat menggeser sediaan makin tebal.
- 7) Biarkan sediaan kering di udara, sediaan yang lama kering akan merubah bentuk eritrosit, cara mengeringkan ditiup diangin-anginkan atau menggunakan kipas elektrik.
- 8) Tulis nama praktikan dan tanggal pada bagian sediaan yang tebal.

(berdasarkan SOP Hapusan Darah Tepi di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya).

C. Memulas Sediaan Hapusan

Sediaan yang akan dipulas hendaknya yang segar, yang disimpan tanpa difiksasi tidak dapat di pulas sebaik sediaan segar. Diantara pengecatan dengan menggunakan wright dan giemsa.

a. Zat pulas wright

Dapat dibeli dalam bentuk serbuk atau sebagai cairan siap pakai.

Cara membuat Larutan Wright :

Untuk membuat larutan koloid yang siap pakai larutan ini harus di larutkan dalam metil alkohol 0,1 gr serbuk itu di gerus dalam sebuah mortar dengan metil alkohol di tambahkan sedikit demi sedikit sampai 60 ml. Simpanlah larutan itu dalam botol berwarna yang diisi sampai penuh, kocoklah isinya tiap hari. Larutan itu 10 hari cukup matang untuk digunakan. Jauhkan larutan wright dari uap asam atau basa. Tutuplah botol selalu rapat-rapat agar tidak kemasukan hawa lembab.

Cara Pengecatan Wright

1. Letakkan sediaan yang akan di pulas di atas rak tempat memulas dengan lapisan darah di atasnya.
2. Teteskan keatas sediaan tersebut 20 tetes larutan wright. Biarkan selama 2 menit agar sediaan rekat denga pewarna.
3. Teteskan kemudian sama banyaknya larutan penyangga pH 6,4 ke atas sediaan itu dan biarkan selama 5-12 menit
4. Siramlah sediaan itu dengan air suling mula-mula perlahan-lahan (untuk membuang zat warna yang terapung di atas)

kemudian keras-keras untuk membersihkan sediaan dari kotoran.

5. Simpan sediaan dengan arah vertikal agar mengering di udara (jangan di tissue).

(berdasarkan SOP Hapusan Darah Tepi di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya).

3.6 Tabulasi Data

Data yang diperoleh dari hasil observasi nilai MCV serta hapusan darah tepi guna melihat ukuran morfologi eritrosit rata-rata dari pasien Gagal Ginjal Kronik akan ditabulasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Hubungan antara nilai MCV dengan ukuran morfologi eritrosit rata-rata pada hapusan darah tepi pasien GGK

No Sampel	Kode sampel	Nilai MCV (fL)	Ukuran Morfologi Eritrosit

Berdasarkan klasifikasi yang diperoleh dari tabel di atas, kemudian dibuat tabel kontingensi sebagai berikut :

Tabel 3.2 Pasien Gagal Ginjal Kronik berdasarkan hasil pemeriksaan nilai MCV dan Ukuran Morfologi Eritrosit Rata-Rata

Nilai MCV	Ukuran Morfologi Eritrosit rata-rata			Jumlah
	Makrositik	Normositik	Mikrositik	
Tinggi				
Normal				
Rendah				
Jumlah				

3.7 Metode Analisis Data

Untuk mengetahui ada tidaknya hubungan antara nilai MCV dengan ukuran morfologi eritrosit rata-rata pada hapusan darah tepi pasien Gagal Ginjal Kronik, maka data yang diperoleh akan dianalisis dengan uji statistik χ^2 (*Chi-square*) dengan taraf signifikan 0,05 (Sudjana, 2005).