

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah analitik observasional dengan menggunakan pendekatan *cross sectional* yaitu membandingkan kadar ChE pada populasi yang terpapar dan tidak terpapar pestisida.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juni 2019.

2. Tempat Penelitian

- a. Pengambilan sampel dilakukan di desa Karangpakel, kecamatan Trucuk, kabupaten Klaten
- b. Pemeriksaan kadar ChE dilakukan di Laboratorium Kesehatan daerah Ungaran, kabupaten Semarang.

C. Populasi dan sampel penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi adalah keseluruhan subjek yang akan diteliti. Populasi dalam penelitian ini adalah semua laki-laki dewasa di desa Karangpakel, kecamatan Trucuk, kabupaten Klaten.

2. Sampel Penelitian

Sampel adalah sebagian wakil dari populasi yang akan diteliti. Sampel diambil 30 orang laki-laki dewasa petani penyemprot pestisida dan 30 orang laki-laki dewasa yang bukan penyemprot pestisida di desa karangpakel, kecamatan Trucuk, kabupaten Klaten yang memenuhi kriteria inklusi.

a. Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*. Teknik *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel berdasarkan kriteria inklusi yang ditentukan oleh peneliti. (Sastroasmoro, 2008).

b. Kriteria Sampel

Kriteria sampel terdiri dari dua jenis yaitu kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subjek penelitian dari suatu populasi yang dapat dijadikan sampel penelitian sedangkan Kriteria eksklusi adalah kondisi yang menyebabkan subjek tidak diikutsertakan dalam penelitian. Kriteria sampel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1) Kriteria populasi yang terpapar pestisida

Kriteria inklusi pada populasi yang terpapar pestisida yaitu laki-laki berusia > 20 tahun, bekerja sebagai penyemprot pestisida dan bersedia menjadi subjek penelitian. Sedangkan kriteria eksklusi untuk populasi yang terpapar pestisida yaitu mempunyai riwayat penyakit hati, sampel hemolisis, lipemik dan ikterik.

2) Kriteria populasi yang tidak terpapar pestisida

Kriteria inklusi untuk populasi yang tidak terpapar pestisida yaitu bukan petani penyemprot pestisida, berjenis kelamin laki-laki, usia > 20 tahun, bersedia menjadi subjek penelitian. Kriteria eksklusi untuk populasi yang tidak terpapar pestisida yaitu memiliki riwayat penyakit hati, sampel hemolisis, lipemik dan ikterik..

c. Jumlah sampel

Jumlah sampel dalam penelitian ini yaitu 60 sampel yang terdiri dari 30 sampel dari populasi yang terpapar pestisida dan 30 sampel dari populasi yang tidak terpapar pestisida. Jumlah sampel tersebut ditentukan berdasarkan teknik sampling yaitu *purposive sampling* atau dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan oleh peneliti.

D. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian dibagi menjadi 2 jenis, yaitu

1. Variabel bebas (*Independen*)

Variabel bebas (*independen*) adalah variabel yang variasinya mempengaruhi variabel lain. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah paparan pestisida.

2. Variabel tergantung (*Dependen*)

Variabel tergantung (*Dependen*) adalah variabel yang variasinya dapat dipengaruhi oleh beberapa variabel lain. Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah kadar ChE (Sugiyono, 2005).

3. Definisi operasional

a. Paparan pestisida

Populasi yang terpapar pestisida adalah petani yang melakukan penyemprotan pestisida sedangkan populasi yang tidak terpapar pestisida adalah orang yang kesehariannya tidak bekerja dengan pestisida

- 1) Alat ukur : kuesioner
- 2) Kategori : Terpapar pestisida dan tidak terpapar pestisida
- 3) Skala : rasio

b. *Cholinesterase*

Cholinesterase adalah enzim dari katalis biologik di dalam jaringan tubuh yang berperan untuk menjaga agar otot-otot, kelenjar-kelenjar dan saraf bekerja secara terorganisir dan harmonis. Kadar ChE dalam serum merupakan indikator terjadinya keracunan pestisida. Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan kadar ChE adalah serum. Pemeriksaan kadar ChE dilakukan dengan bantuan alat fotometer *Microlab 300* menggunakan metode enzimatik kinetik dengan nilai rujukan laki-laki 4620 U/L – 11500 U/L, perempuan : 3930 – 10800 U/L dengan skala numerik.

E. Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spuit 3 ml, *tourniquet*, alkohol *swab*, plester, tabung *vaccum* tanpa antikoagulan (tabung bertutup merah), rak tabung, *centrifuge*, *micropipette* 1000µl dan 20µl, dan

250µl *yellow tip*, *blue tip*, reagen ChE, fotometer *Microlab 300* dan *vortex*, serum.

F. Prosedur Penelitian

Berikut langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini:

1. Pengisian kuisisioner

Penelitian ini menggunakan kuisisioner yang berisi pertanyaan tentang faktor-faktor yang berhubungan dengan penurunan kadar ChE.

2. Prosedur pengambilan darah vena

Menentukan vena yang akan diambil darahnya. Pada orang dewasa digunakan salah satu vena di *fosa cubiti*.

- a. Membersihkan lokasi vena yang akan ditusuk dengan alkohol 70% dan biarkan sampai kering.
- b. Memasang ikatan pembendung pada lengan atas dan meminta pasien untuk mengempal dan membuka tangannya berulang kali agar vena dapat terlihat dengan jelas. Pembendungan vena tidak perlu terlalu erat karena darah akan terpancar.
- c. Menegangkan kulit di atas vena dengan jari-jari tangan kiri, agar vena tidak bergerak saat ditusuk.
- d. Menusuk vena tujuan dengan jarum dan semprit menggunakan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke lumen vena.
- e. Meregangkan ikatan pembendung dan perlahan menarik semprit sampai diperoleh jumlah darah yang diinginkan.

- f. Melepaskan bendungan jika masih terpasang.
- g. Menaruh kapas kering di atas bekas tusukan dan cabut semprit beserta jarum tersebut.
- h. Meminta kepada pasien yang diambil darahnya untuk menekan tempat tusukan tersebut beberapa menit dengan kapas tersebut.
- i. Mengangkat jarum dari semprit dan mengalirkan darah ke dalam wadah melalui dinding wadah atau tabung (Gandasoebrata, 2008).

3. Prosedur pembuatan serum

- a. Membiarkan darah membeku terlebih dahulu pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- b. Lapisan atas yang berwarna kuning muda jernih adalah serum atau plasma.
- c. Serum yang memenuhi syarat tidak boleh kelihatan merah dan keruh (lipemik) (Kemenkes No. 1196, 2010).

4. Prosedur pemeriksaan sampel

Menurut standar prosedur operasional Laboratorium Kesehatan daerah Ungaran, langkah-langkah pemeriksaan sampel yaitu sebagai berikut :

- a. Menghidupkan Alat
 - 1) Fotometer *Microlab* 300 dihubungkan dengan steker arus listrik.
 - 2) Fotometer dinyalakan dengan menekan tombol power *on/off* di bagian belakang alat.

- 3) Larutan labpro *neutral* 5% dihisapkan pada alat dan tunggu sampai selesai bunyi beep.
- 4) Hisapkan aquabides dan tunggu sampai selesai (apabila proses telah selesai maka akan muncul tampilan menu).

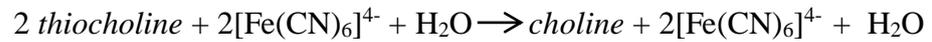
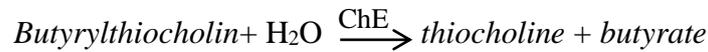
b. *Quality Control*

- 1) Pada *menu* dipilih *quality control* lalu menekan *enter*
- 2) Memilih target
- 3) Memasukkan nilai target kemudian enter
- 4) Memilih parameter *cholinesterase*
- 5) Membuat larutan *blanko*, kalibrasi dan kontrol, dihomogenkan
- 6) Membiarkan selama 5 menit
- 7) Masukkan air sampai bunyi *beep* lalu dilepas
- 8) Masukkan larutan *blanko* sampai bunyi *beep* lalu dilepas dilanjutkan dengan larutan kalibrasi kemudian larutan kontrol
- 9) Baca hasilnya

c. Pemeriksaan kadar *Cholinesterase*

- 1) Metode: enzimatis kinetik, metode optimal menurut rekomendasi dari *German Society of Clinical Chemistry (DGKC)*
- 2) Prinsip: ChE menghidrolisis *butyrylthiocholin* menjadi butirir dan *thiocholin*. *Thiocholine* mengurangi kalium kuning *hexacyanoferrate (III)* menjadi *potassium hexacyanoferrate (III)* yang tidak berwarna. Penurunan absorbansi diukur pada panjang gelombang 405 nm.

3) Reaksi :



4) R1: Pyrophosphate pH 7.6 95 mmol/L

Potassium hexacyanoferrate(III) 2.5 mmol/L

R2: Butyrylthiocholine 75 mmol/L

5) Dibuat larutan blanko dengan mencampur 20µl aquades dengan 1000µl reagen 1 kemudian inkubasi 3 menit lalu ditambahkan 250µl reagen 2.

6) Dibuat larutan sampel dengan mencampur 20 µl sampel serum dengan 1000µl reagen 1 kemudian di inkubasi selama 3 menit lalu ditambahkan 250µl reagen 2.

7) Pada menu *measure*, tekan *enter* lalu pilih pemeriksaan ChE kemudian *enter*.

8) Hisapkan aquades sampai bunyi *beep* lalu masukkan identitas sampel.

9) Hisapkan larutan *blanko* sampai bunyi *beep* dan baca absorbansinya setelah 2 menit.

10) Hisapkan larutan sampel sampai bunyi *beep* lalu baca absorbansinya pada panjang gelombang 405 nm

11) Nilai normal

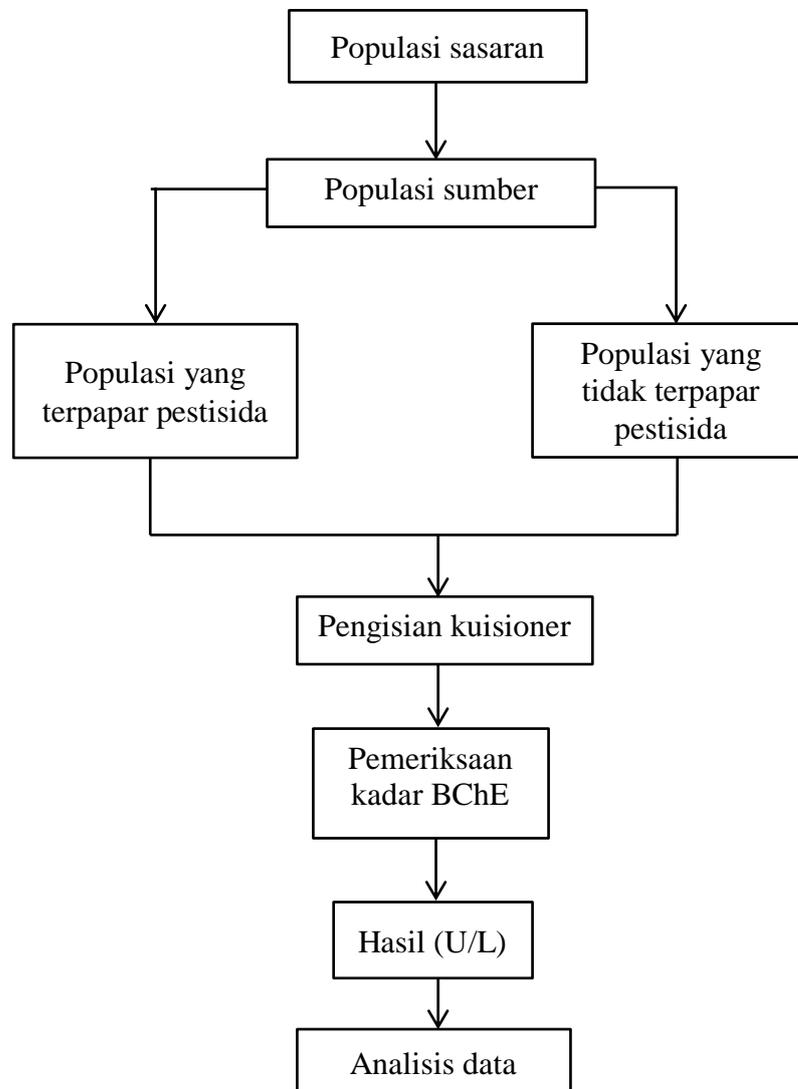
Laki-laki : 4620 U/L- 11500 U/L

Perempuan: 3930 U/L - 10800 U/L.

d. Prosedur mematikan alat

- 1) Masuk ke main *menu* lalu memilih *maintenance*
- 2) Memilih perawatan harian
- 3) Hisapkan larutan neutral 5% dan tunggu sampai selesai (sampai muncul permintaan untuk memasukkan aquabides)
- 4) Hisapkan aquabides dan tunggu sampai selesai
- 5) Mematikan alat dengan cara menekan tulisan mematikan atau angka 6 pada menu utama
- 6) Menekan tombol *off* di belakang fotometer dan menekan tombol *off* pada *stabilizer*.

G. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian

H. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini menggunakan 2 cara yaitu:

1. Data primer

Data primer merupakan data yang diambil dari sebuah penelitian dengan instrumen yang dilakukan pada saat tertentu. Data primer dalam penelitian ini menggunakan kuisisioner. Kuisisioner atau angket adalah teknik pengumpulan data yang dilakukan dengan cara memberi sejumlah pertanyaan tertulis yang digunakan untuk memperoleh informasi dari responden dalam arti laporan tentang pribadinya atau hal-hal yang ia ketahui. Kuisisioner pada penelitian ini diarahkan pada petani berkaitan dengan penggunaan pestisida dan bahaya yang ditimbulkan.

2. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang diperoleh dari eksperimen. Data sekunder dalam penelitian ini adalah pengukuran kadar ChE serum petani dengan menggunakan fotometer *Microlab 300* (Sugiyono, 2005).

I. Teknik Analisis Data

Data yang telah terkumpul dianalisis menggunakan bantuan program komputer. Langkah pertama yang dilakukan adalah uji normalitas menggunakan *shapiro wilk* untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal (nilai probabilitas $> 0,05$) atau tidak berdistribusi normal (nilai probabilitas $< 0,05$). Apabila data telah terbukti berdistribusi normal, maka dapat dilakukan uji beda yaitu uji *t* (uji *independent sampel t-test*) yang bertujuan untuk membandingkan rata-rata dari dua grup yang tidak berhubungan satu dengan yang lain, apakah kedua grup tersebut mempunyai rata-rata yang sama atau tidak secara signifikan. Jika data tidak berdistribusi

normal dilakukan uji *Mann Whitney* yang dibandingkan adalah median (suatu parameter yang membagi dua sama banyak, mempunyai dua makna) peringkat dari sampel pertama dengan median peringkat dari sampel kedua. Penelitian ini menggunakan interval kepercayaan 95% dan signifikansi $p < 0,05$ (Monikasari, 2016).