

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Ruang Lingkup Ilmu**

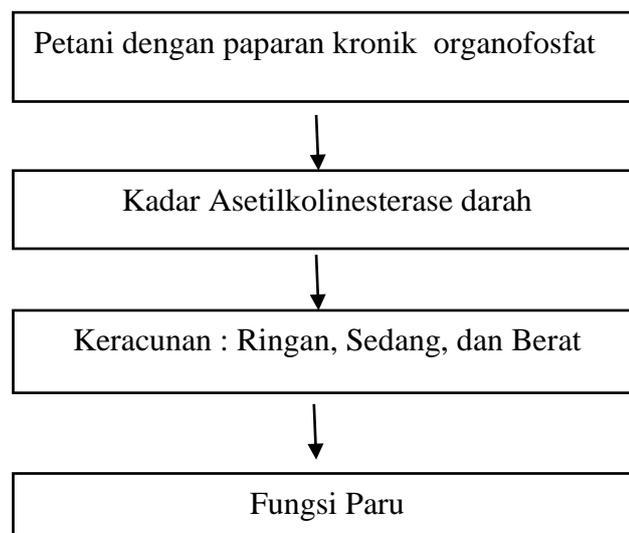
Fisiologi dan Farmakologi-Toksikologi

#### **4.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara dengan ketinggian 1663-2093 meter di atas permukaan laut. Pengumpulan data akan dilaksanakan pada Maret 2014 sampai jumlah sampel tercukupi.

#### **4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan menggunakan rancangan belah lintang. Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



**Gambar 5 : Bagan Skema Penelitian**

#### **4.4. Populasi dan Sampel**

##### **4.4.1. Populasi Target**

Populasi target adalah petani dengan paparan kronik pestisida organofosfat.

##### **4.4.2. Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau adalah petani dengan paparan kronik pestisida organofosfat di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara.

##### **4.4.3. Sampel**

Sampel penelitian adalah petani yang menggunakan pestisida organofosfat di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

###### **a. Kriteria Inklusi**

- Menetap selama 1 tahun atau lebih di wilayah Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara.
- Jenis kelamin laki-laki.
- Memiliki umur antara 20 – 60 tahun.
- Bekerja sebagai petani dan melakukan kegiatan penyemprotan pestisida organofosfat  $\geq$  1 tahun.

###### **b. Kriteria Eksklusi**

- Berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik ditemukan adanya riwayat dan gejala gangguan fungsi paru dan fungsi hati.

- Berdasarkan anamnesis dijumpai adanya riwayat kebiasaan minum-minuman beralkohol dan pemakaian obat penghambat kolinesterase.
- Menolak dilakukan pemeriksaan.

#### 4.4.4. Cara Sampling

Penelitian ini telah melakukan pengambilan sampel dengan *carapurposeive sampling* berdasarkan kriteria yang telah ditentukan oleh peneliti.

#### 4.4.5. Besar Sampel

Sesuai dengan desain penelitian yaitu belah lintang, besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel untuk proporsi tunggal. Apabila besarnya kesalahan tipe I = 5% ( $Z\alpha=1,96$ ). Besarnya kesalahan tipe II ditetapkan sebesar 20% ( $Z\beta=0,842$ ). Besarnya koefisien korelasi antara aktivitas asetilkolinesterase oleh karena belum diketahui diperkirakan sebesar 0,5 (korelasi derajat sedang). Perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut.

$$n = \left[ \frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln \left( \frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3 = \left[ \frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln \left( \frac{1+0,5}{1-0,5} \right)} \right]^2 + 3 = 29,02 \approx 30$$

Keterangan:

$$Z\alpha = 1,96 \quad (\alpha = 0,05)$$

$$Z\beta = 0,842 \quad (\beta = 0,2)$$

$$r = 0,5$$

Berdasarkan perhitungan besar sampel jumlah subjek yang dibutuhkan adalah minimal 30 orang petani kentang dengan paparan kronik pestisida organofosfat.

#### **4.5. Variabel Penelitian**

##### **4.5.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kadar asetilkolinesterase darah.

##### **4.5.2. Variabel Terikat**

Variabel terikat penelitian ini adalah fungsi paru.

##### **4.5.3. Variabel Perancu**

Variabel perancu penelitian ini adalah

- a) Usia
- b) Aktivitas Fisik
- c) Riwayat Merokok
- d) Pemakaian Alat Pelindung Diri

#### 4.6. Definisi Operasional

**Tabel 3 .Definisi operasional variabel**

No	Variabel	Unit	Skala
1	Aktivitas Enzim Asetilkolinesterase Darah	%	Rasio
	<p>Besarnya kadar enzim asetilkolinesterase dalam darah diperiksa dengan metode <i>reactive paper kit</i> untuk pengukuran.</p> <p>Kategori aktivitas enzim asetilkolinesterase adalah sebagai berikut :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal : &gt; 75%</li> <li>2. Keracunan ringan : 75 – 50%</li> <li>3. Keracunan sedang : 50 – 25%</li> <li>4. Keracunan berat : &lt; 25%</li> </ol>		
2	Fungsi paru		
	1. Kapasitas Vital (VC)	ml	Rasio
	<p>Volume udara yang dikeluarkan melalui ekspirasi maksimal setelah dilakukan inspirasi maksimal. Kapasitas vital besarnya sama dengan volumeinspirasi cadanganditambah volume tidal (<math>VC=IRV+ERV+TV</math>) dan dapat diukur dengan spirometri.</p>		
	2. Kapasitas Vital Paru Paksa (FVC)	%	Rasio
	<p>Volume udara maksimum yang dapat dihembuskan secara paksa dengan bantuan otot-otot bantu pernafasan.</p>		

**Tabel 3.** Definisi operasional variabel (lanjutan)

No	Variabel	Unit	Skala
	Dapat diukur dengan spirometri.		
	3. Kapasitas pernafasan maksimal (MVV) Volume udara yang dapat dihirup dan dikeluarkan secara maksimal. Dapat diukur dengan spirometri	%	Rasio
3	Usia  Usia subjek penelitian diketahui dari data tanggal lahir yang tercantum pada kartu identitas ataupun dokumen sejenis. Umur dinyatakan dalam tahun.	Tahun	Rasio
4	Aktivitas Fisik  Aktivitas fisik subjek penelitian diketahui dari anamnesis dan data kuesioner.		Nominal
5	Riwayat Merokok  Riwayat merokok subjek penelitian diketahui dari anamnesis jika subjek merokok atau sudah berhenti selama 1 tahun terakhir atau lebih.		Nominal
6	Pemakaian Alat Pelindung Diri  Pemakaian alat pelindung diri saat penyemprotan pestisida organofosfat di pertanian <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pemakaian lengkap</li> <li>• Pemakaian tidak lengkap</li> </ul>		Nominal

## **4.7. Cara Pengumpulan Data**

### **4.7.1. Bahan**

- a. Darah vena
- b. Kapas
- c. Alkohol

### **4.7.2. Alat**

- a. S spuit
- b. *Tintometer lovibond AF267*
- c. Tabung hematokrit yang telah diberi heparin
- d. Mesin sentrifuge
- e. Alat elektronik (tablet)

### **4.7.3. Jenis Data**

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer. Data diperoleh langsung dari subjek penelitian. Data primer yang dikumpulkan adalah data kadar kolinesterase responden dan data spirometri responden.

### **4.7.4. Cara Kerja**

Seleksi sampel dilakukan dengan menggunakan kuesioner. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi ditetapkan sebagai sampel setelah mendapat penjelasan tentang penelitian dan memberikan persetujuan setelah pemberitahuan (*informed consent*) yang diberikan. Pengukuran berat badan, tinggi badan, pengambilan sampel darah vena untuk tes kadar kolinesterase

dan pemeriksaan waktu dilakukan pada saat pasien tiba di tempat yang dipersiapkan.

1) Pemeriksaan kadar kolinesterase darah<sup>34</sup>

a. Persiapan larutan yang dibutuhkan

Larutan yang dibutuhkan antara lain larutan indikator (yang terdiri atas *Brom Timol Blue* [BTB] dan aquadestilata), larutan substrat (yang terdiri atas Acetylcholine perchlorat dan Aquadestilata), dan Aquadestilata.

b. Penentuan kadar kolinesterase darah sampel

i. Tes reagen

- 1) Satu *test tube* diambil kemudian diisi dengan 0,5 cc larutan indikator BTB dan segera ditutup. Sebanyak 0,01 cc darah kontrol (orang yang tidak terpapar pestisida) ditambahkan ke dalam tabung tadi, kemudian dikocok perlahan. Larutan substrat ditambahkan 0,5 cc. Campuran ini dipindahkan ke dalam kuvet (tabung persegi dengan ruang 2,5 mm), kemudian ditempatkan di ruangan sebelah kanan pada komparator. Komparator dipegang dan dihadapkan pada sinar matahari.
- 2) Disk dari komparator tersebut diputar sampai didapatkan warna yang sama antara warna sebelah kanan dan sebelah kiri pada kaca komparator tersebut dan persentasenya dibaca. Hasilnya tidak boleh melebihi 12,5%. dan dipanaskan jika hasilnya melebihi 12,5%.

## ii. Sampling darah

- 1) Kuvet-kuvet 2,5 cc disiapkan. Satu sampel dari kontrol diambil dan darah blanko dibuat dengan cara menambah 0,01 cc darah ke dalam 1 cc aquadestilata kemudian dimasukkan ke dalam kuvet 2,5 cc. Kuvet ditempatkan di ruangan sebelah kiri komparator. Kemudian dengan pipet 0,5 cc larutan indikator ditambahkan.
- 2) Darah kontrol diambil lagi sebanyak 0,01 cc dan dimasukkan dalam tabung 1 sebelah kiri. Kemudian pipet dibilas dengan larutan indikator dalam tabung dan sampel darah diambil sebanyak 0,01 cc dari masing-masing responden dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung secara berurutan. Setiap memasukkan sampel darah ke dalam tabung, pipet harus selalu dibilas dengan larutan indikator.

## iii. Penambahan Larutan Substrat

- 1) Sebanyak 0,5 cc larutan substrat ditambahkan ke dalam tabung kontrol. Waktu pada saat menambahkan larutan substrat dicatat (yaitu waktu 0.00/*time zero*) kemudian campuran larutan dipindahkan ke dalam kuvet 2,5 mm dan diperhatikan warnanya pada komparator. Mulai dari tabung responden pertama, sebanyak 0,5 cc larutan substrat ditambahkan ke dalam tabung reaksi setiap 1 menit tepat dari waktu 0. Tabung segera ditutup.

- 2) Warna dari sampel kontrol yang berada dalam komparator diperiksa dan ditunggu sampai campuran dalam kuvet mencapai 100% warna aktif, yang tergantung pada suhu ruangan, dan waktunya dicatat. Selanjutnya campuran dalam kuvet kontrol dibuang, setiap 1 menit isi dari tabung-tabung berikutnya dipindahkan ke dalam kuvet. Kuvet dimasukkan ke dalam ruangan sebelah kanan dari komparator. Dengan menghadap ke arah sinar matahari, disk dari komparator diputar sehingga diperoleh warna yang sama antara warna sampel dengan warna dari kaca perbandingan dalam disk. Angka yang diperoleh dicatat.
- 3) Hasil berupa angka persentase didapatkan berdasarkan tabel warna pada kaca perbandingan dalam disk (*tintometer lovibond AF267*) berikut:

**Tabel4.** Interpretasi warnatintometer lovibond AF267

Gambar	Warna	Interpretasi
	Kuning	Normal : > 75%
	Kuning kehijauan	Keracunan ringan : 75% - 50%
	Hijau	Keracunan sedang : 50% - 25%
	Biru	Keracunan berat : < 25%

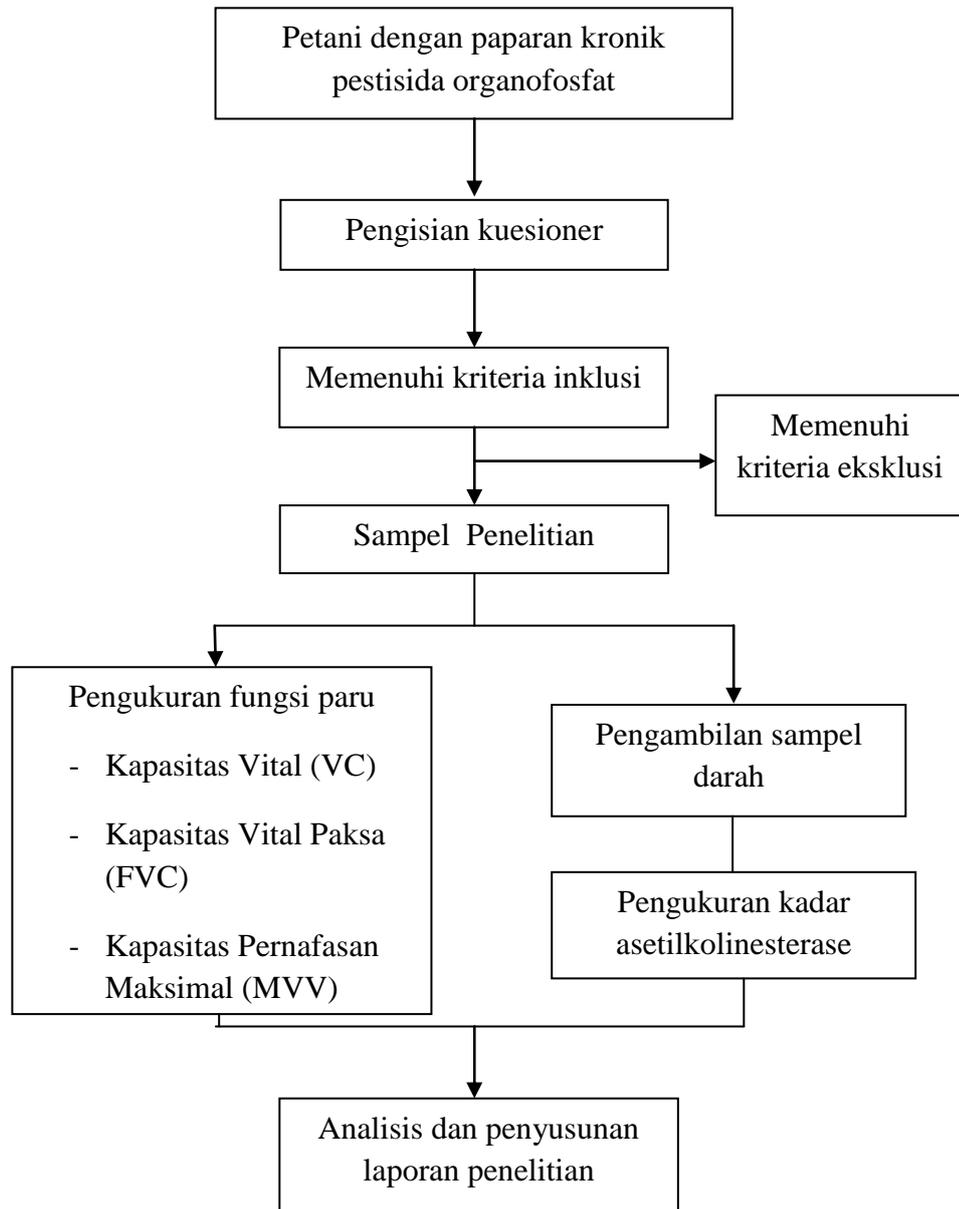
2) Pengukuran fungsi paru.<sup>32</sup>

- Hubungkan kabel adaptor ke unit spirometri, kemudian sambungkan kabel ke power listrik 220 volt.
- Buka layar atau monitornya.
- Tekan tombol *On* atau *Off*, monitor akan menyala dalam 2 detik.
- Pada monitor akan muncul identitas pasien ( ID ) yang harus diisi oleh user dengan menekan tombol ( ID ).
- Untuk memindahkan kursor setelah mengisi data – data ( ID ) gunakan tombol *enter*.
- Tentukan suku atau etnis, kemudian tekan enter.
- Pasang *mouthpiece* pada turbin di sebelah kiri alat.
- Masukkan *mouthpiece* ke dalam mulut pasien dengan posisi dijepit di antara gigi.
- Selanjutnya lakukan tes pemeriksaan fungsi paru.
  - a) Kapasitas vital (VC) : lakukan tes dengan menarik nafas sedalamnya dengan lambat lalu buang sebanyak mungkin dengan lambat (seperti bernafas normal). Untuk mengakhiri test tekan ESC.
  - b) Kapasitas vital paksa (FVC) : lakukan test dengan menarik nafas nafas sedalam – dalamnya lalu membuang nafas sedalam – dalamnya dengan cepat. Untuk mengakhiri test tekan ESC.

c) Kapasitas pernafasan maksimal (MVV) : lakukan test dengan menarik nafas sedalamnya dengan cepat lalu buang dengan cepat. Untuk mengakhiri test tekan ESC.

- Setelah semua pengukuran selesai, tekan tombol *post* sehingga muncul hasil pengukuran. Untuk melihat hasil keseluruhan tekan tombol atas atau bawah.
- Cetak hasilnya.
- Bila alat telah selesai digunakan, matikan dengan menekan tombol *On* atau *Off* nya, lepas mouthpiece dari turbin. Rapihkan dan masukkan ke dalam tas.

#### 4.8. Alur Penelitian



**Gambar 6 : Bagan Alur Penelitian**

#### **4.9. Analisis Data / Statistik**

Analisis data dilakukan setelah sebelumnya dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan kebenaran data. Data selanjutnya akan ditabulasi, diberi kode dan dimasukkan dalam komputer. Analisis data akan meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis.

Analisis deskriptif data yang berskala kategorial seperti kategori kadar asetilkolinesterase, jenis kelamin, riwayat penyakit dahulu, aktivitas fisik, kebiasaan merokok, dan kebiasaan konsumsi alkohol dinyatakan sebagai distribusi frekuensi dan persentase. Data yang berskala kontinyu seperti usia dan fungsi paru dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku atau median apabila data berdistribusi tidak normal. Normalitas distribusi data akan dianalisis dengan uji Saphiro-Wilk oleh karena besar sampel termasuk kecil (kurang dari 50). Apabila hasil uji Saphiro-Wilk menghasilkan nilai  $p \leq 0,05$  maka data dianggap distribusinya tidak normal. Data akan ditampilkan dalam bentuk diagram atau tabel.

Uji hipotesis untuk korelasi antara kadar asetilkolinesterase dengan fungsi paru diuji dengan uji korelasi Pearson apabila data berdistribusi normal.

Nilai  $p$  dianggap bermakna apabila nilai  $p < 0,05$ .

Analisis statistik menggunakan program komputer SPSS 21.0.

#### 4.10. Etika Penelitian

Penelitian telah diajukan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Undip dan ijin dari pemerintah setempat. Subjek penelitian akan diminta persetujuannya dalam bentuk *informed consent*. Sebelumnya telah diberi penjelasan tentang maksud dan tujuan dari penelitian. Subjek berhak menolak dan keluar dalam keikutsertaan tanpa ada konsekuensi apapun dan sesuai keinginannya. Subjek penelitian diberi imbalan sesuai kemampuan peneliti. Seluruh biaya yang diperlukan ditanggung oleh peneliti.

#### 4.11. Jadwal Penelitian

**Tabel 5.**Jadwal penelitian

No	Kegiatan	Bulan							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Penyusunan proposal	■	■						
2.	Ujian proposal		■						
3.	Pengambilan data			■	■	■			
4.	Analisis data dan evaluasi				■	■	■		
5.	Penyusunan laporan hasil penelitian					■			
6.	Seminar hasil penelitian						■		