

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

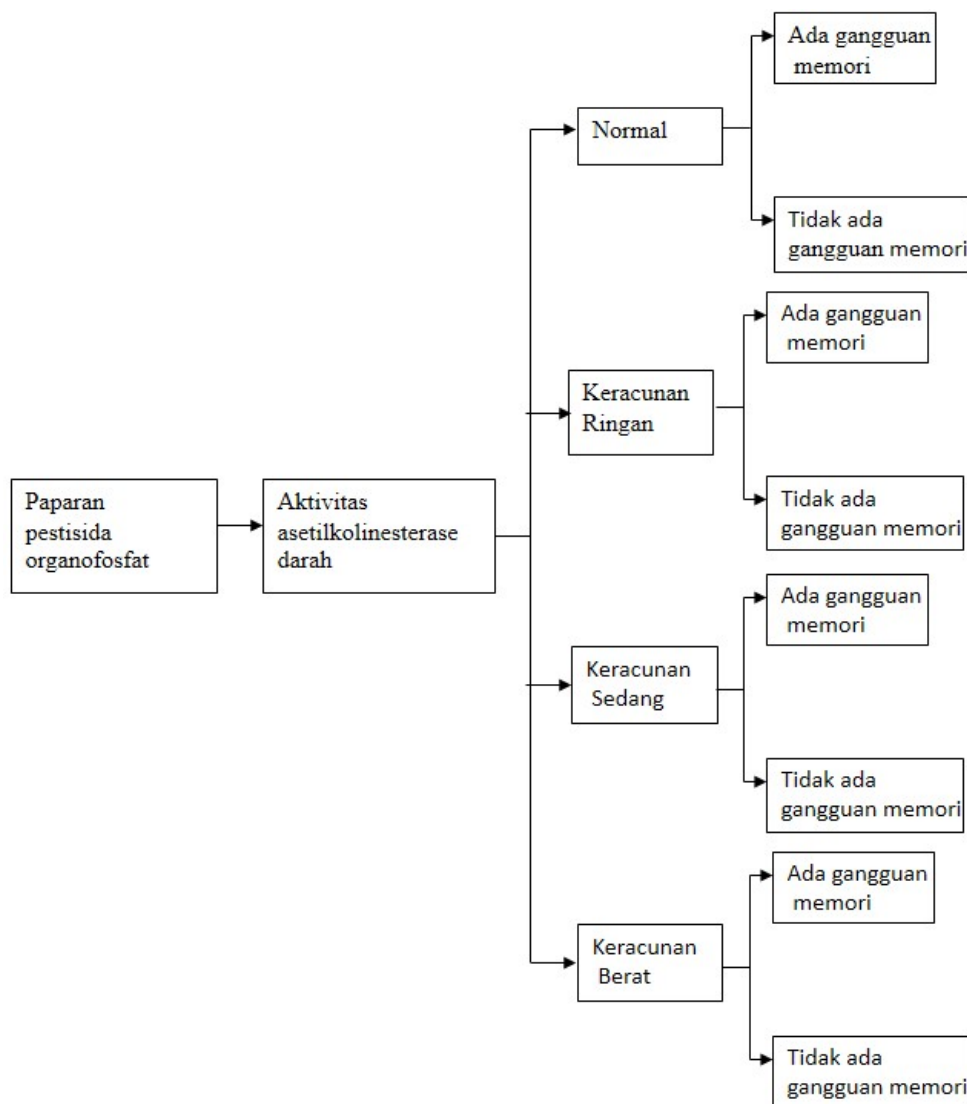
Fisiologi, Farmakologi- Toksikologi

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara. Pengumpulan data telah dilaksanakan pada hari Sabtu, 20 Mei 2017.

#### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan menggunakan rancangan belah lintang.



**Gambar 7.** Rancangan penelitian

### 3.4 Populasi dan Sampel

#### 3.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah petani kentang dengan paparan kronik pestisida organofosfat.

#### 3.4.2 Populasi Terjangkau

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

### 3.4.3 Sampel

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

#### 3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- Menetap selama dua tahun atau lebih di wilayah Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara
- Jenis Kelamin laki- laki
- Umur antara 20- 60 tahun
- Memiliki kadar hemoglobin  $\geq 12,5$  gr/dl
- Melakukan kegiatan menyemprot pestisida organofosfat selama satu tahun atau lebih
- Memiliki Indeks Massa Tubuh (IMT)  $\geq 18,5$
- Tingkat pendidikan minimal SD atau sederajat.

#### 3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- Adanya riwayat kelainan susunan saraf pusat
- Adanya riwayat kebiasaan minum- minuman beralkohol
- Adanya riwayat gangguan ginjal dan liver
- Adanya riwayat pemakaian obat penghambat dan pemicu kolinesterase
- Menolak untuk diikuti sertakan dalam penelitian

### 3.4.4 Cara *Sampling*

Subjek penelitian diperoleh dengan cara *purposive sampling* berdasarkan kriteria di atas yang telah ditentukan oleh peneliti.

### 3.4.5 Besar Sampel

Sesuai dengan desain penelitian yaitu belah lintang, besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel untuk proporsi tunggal. 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.

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

Keterangan:

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

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

$$r = 0,5$$

Apabila diperkirakan terjadi *drop-out* yang besarnya adalah 10% maka besar sampel dengan koreksi *drop out* adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{n}{1 - do} = \frac{29,02}{1 - 0,1} = 32,244 \approx 33$$

Berdasarkan perhitungan besar sampel jumlah subjek yang dibutuhkan adalah 33 orang petani kentang dengan paparan kronik pestisida organofosfat.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah aktivitas asetilkolinesterase darah

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah fungsi memori.

#### 3.5.3 Variabel Perancu

Variabel perancu penelitian ini adalah:

- Dosis pestisida
- Lama kerja per hari
- Frekuensi penyemprotan
- Pemakaian APD

### 3.6 Definisi Operasional

**Tabel 3.** Definisi operasional variabel

No	Variabel	Unit	Skala
1	Aktivitas Asetilkolinesterase Darah Aktivitas yang digambarkan dengan besarnya kadar enzim asetilkolinesterase dalam darah diperiksa dengan metode Tintometer untuk pengukuran.	Unit/ ml	Ordinal
	Interpretasi Aktivitas Enzim Asetilkolinesterase		
	Status kesehatan		<i>AChE level (%)</i>
	Normal		100-75
	Ringan		75-50
	Sedang		50-25
	Tinggi		25-0
2	Fungsi Memori Diukur menggunakan instrument MIS, dengan kategori: 1. Gangguan fungsi memori : <7,5 2. Tidak ada gangguan fungsi memori : >7,5	-	Nominal

No	Variabel	Unit	Skala
3	Dosis Pestisida Jumlah pestisida organofosfat yang dipakai untuk penyemprotan dalam gram atau cc tiap pencampuran dengan suatu pelarut. Dosis aplikasi yang dianjurkan pada umumnya dalam kisaran 1,5 – 2 cc/L pelarut air. 1. Tak memenuhi syarat apabila $> 1,5$ cc/L pelarut 2. Memenuhi syarat apabila $\leq 1,5$ cc/L pelarut	cc/L	Nominal
4	Lama Kerja per Hari Satuan waktu dalam jam pada saat terpajan pestisida organofosfat per hari di daerah pertanian ketika penyemprotan ataupun di rumah ketika penyimpanan dan pengelolaan 1. $> 8$ jam per hari 2. $\leq 8$ jam per hari	Jam/ hari	Nominal
5	Frekuensi Penyemprotan Jumlah pemakaian pestisida organofosfat untuk penyemprotan di daerah pertanian per minggu 1. Lebih dari 1 kali seminggu 2. Kurang dari 1 kali seminggu	-	Nominal
6	Pemakaian Alat Pelindung Diri Pemakaian alat pelindung diri pada saat kegiatan penyemprotan pestisida organofosfat di daerah pertanian. 1. Pemakaian lengkap 2. Pemakaian tidak lengkap	-	Nominal

### 3.7 Cara Pengumpulan data

Seleksi sampel dilakukan dengan menggunakan kuesioner. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi ditetapkan sebagai sampel setelah mendapatkan penjelasan tentang penelitian dan memberikan persetujuan setelah pemberitahuan (*informed consent*). Pengukuran berat badan, tinggi badan, pengambilan sampel darah vena untuk tes kadar kolinesterase dan kadar hemoglobin serta pemeriksaan fungsi memori dilakukan pada saat pasien tiba di tempat yang dipersiapkan.

1) Pemeriksaan kadar asetilkolinesterase darah<sup>42</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. Pipet kemudian 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. Disk



dari komparator diputar dengan menghadap ke arah sinar matahari sehingga diperoleh warna yang sama antara warna sampel dengan warna dari kaca perbandingan dalam disk. Angka yang diperoleh dicatat.

c. Analisa hasil pemeriksaan

Hasil berupa angka persentase didapatkan berdasarkan tabel warna pada kaca perbandingan dalam disk (Tintometer Lovibond AF267) berikut:

**Tabel 4.** Interpretasi warna *Tintometer*

<i>Reactive paper color</i>	Status kesehatan	<i>AChE level (%)</i>
Kuning	Normal	100-75
Kuning kehijauan	Ringan	75-50
Hijau	Sedang	50-25
Biru	Tinggi	25-0

Sumber : Dirjen P2M dan PLP Depkes RI<sup>42</sup>

2) Mengukur fungsi memori menggunakan MIS<sup>18</sup>

- Meminta subjek untuk menghafal dan mengulang 4 kata yang diucapkan pemeriksa

SEJARAH  
PABRIK  
POLISI  
SIKAT GIGI

- Menyebutkan kategori kata dari 4 kata yang sudah dihafal

SEJARAH  
PABRIK  
POLISI  
SIKAT GIGI

PELAJARAN SEKOLAH  
BANGUNAN  
PEKERJAAN  
BARANG PRIBADI

- Memastikan subjek mengingat kata dengan kategorinya dengan menyebutkan kategori kata kemudian meminta subjek untuk menyebutkan kata yang termasuk kategori tersebut
- Mengatakan supaya subjek mengingat 4 kata beserta kategorinya karena akan ditanyakan kembali
- Mengalihkan perhatian subjek dengan meminta menyebutkan nama- nama hewan selama 30 detik
- Meminta subjek menyebutkan 4 kata yang di hafal sebelumnya
- Mencatat jumlah kata yang dapat diingat (*delayed-free recall*)
- Jika tidak dapat menyebutkan keempat kata, pemeriksa membantu dengan menyebutkan kategori dari kata tersebut
- Mencatat jumlah kata yang dapat diingat (*cued recall*)
- Skoring dilakukan dengan rumus :

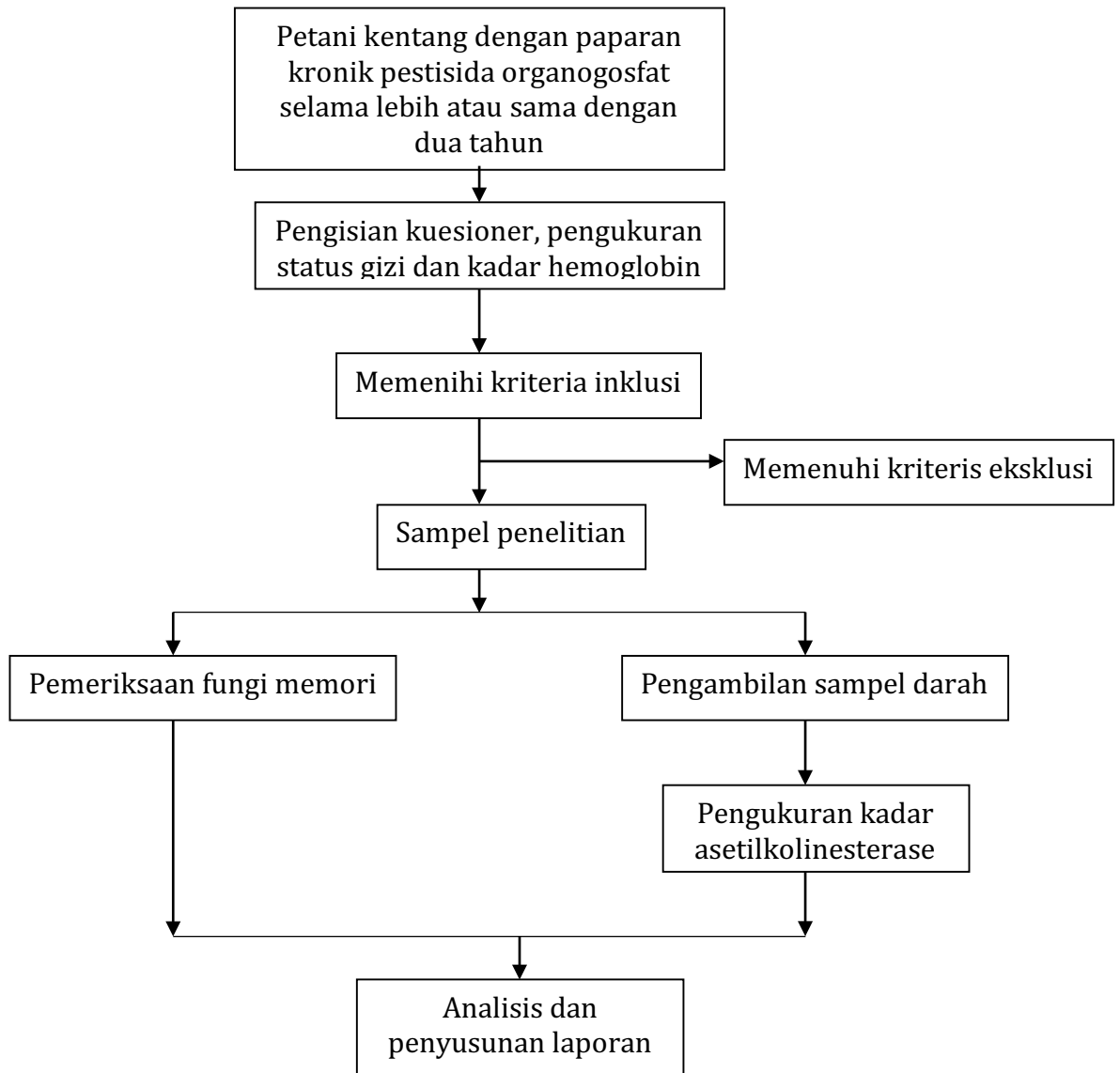
$$2x (\textit{delayed-free recall}) + \textit{cued recall}$$

**Tabel 5.** Interpretasi MIS

Total Skor	Interpretasi
>7,5	Tidak ada gangguan fungsi memori
<7,5	Ada gangguan fungsi memori

Sumber : Edith L<sup>43</sup>

### 3.8 Alur Penelitian



**Gambar 8** .Bagian alur penelitian

### 3.9 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan kebenaran data. Data selanjutnya ditabulasi, diberi kode dan dimasukkan dalam computer untuk selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program.

Analisis data meliputi analisis deskripsi dan uji hipotesis. Pada analisis deskripsi, data yang berskala kategorial seperti aktivitas asetilkolinesterase, dosis pestisida, frekuensi penyemprotan, lama kerja per hari, dan penggunaan APD digambarkan sebagai distribusi frekuensi dan persentase. Data ditampilkan dalam bentuk tabel ataupun diagram. Data yang berskala kontinu seperti usia dan lama kerja dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku atau median apabila data berdistribusi tidak normal. Normalitas distribusi data di analisis dengan uji Saphiro- Wilk karena besar subjek dalam penelitian ini termasuk kecil (<50 subjek). Hasil uji Saphiro- Wilk menghasilkan nilai  $p < 0,05$  maka data dianggap berdistribusi tidak normal.

Uji hipotesis dilakukan untuk menilai korelasi antara aktivitas asetilkoinesterase dengan fungsi memori yang dianalisis dengan uji *chi-squared*. Nilai p dianggap bermakna apabila  $<0,05$ . Analisis statistik menggunakan program komputer.

### 3.10 Etika Penelitian

Protokol penelitian telah mendapat *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Calon subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi tandap adanya kriteria eksklusi, diberikan penjelasan lengkap mengenai prosedur penelitian, tujuan, dan manfaat penelitian. Calon subjek berhak menentukan keikut sertaannya dalam penelitian. Calon subjek dapat menolak keikutsertaan atau keluar dari penelitian tanpa ada konsekuensi apapun. Bagi calon subjek penelitian yang setuju untuk ikut serta dalam penelitian, identitas dirahasiakan serta diminta menandatangani persetujuan dalam bentuk *informed consent* tertulis (Persetujuan Setelah Penjelasan/ PSP).