

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan aktivitas kolinesterase dan aktivitas SGPT dan SGOT pada petani yang terpajan pestisida di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar. Tempat pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juni tahun 2023.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh petani di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar yang berjumlah 25 petani.

2. Sampel

Sampel yang digunakan diambil dari populasi petani dengan kriteria petani pengguna pestisida golongan Organofosfat, dan bersedia menjadi respondendan bersifat kooperatif.

a. Kriteria Inklusi:

1. Petani yang memakai pestisida golongan organofosfat.
2. Petani menyemprot pestisida organofosfat lebih dari 2 jam.
3. Bersedia menjadi responden penelitian.
4. Waktu kerja sebagai penyemprot insektisida \pm 3 bulan.

b. Kriteria Eksklusi

1. Petani dengan riwayat hepatitis
2. Pria yang berusia $>$ 70 tahun.
3. Tidak bersedia menjadi responden penelitian.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Aktivitas Enzim Kolinesterase	Aktivitas kolinesterase pada petani yang terpajan pestisida di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar	Fotometer Kinetik	Kenza TX-240	U/L	Rasio
2	Aktivitas SGPT	Aktivitas SGPT pada petani di Desa Tanjungsari Kecamatan	Fotometer Kinetik	Kenza TX-240	U/L	Rasio
3	Aktivitas SGOT	Aktivitas SGOT pada petani di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar	Fotometer Kinetik	Kenza TX-240	U/L	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Mengisi Lembar Kuesioner

- a. Peneliti meminta kontribusi pada petani di Kecamatan Natar agar menjadi responden penelitian.
- b. Peneliti memberitahukan identitas, mendeskripsikan tujuan penelitian yang akan dilakukan, juga meminta dan mengisi surat persetujuan menjadi responden (*informed consent*) dan kuisioner responden.
- c. Peneliti menyerahkan kuesioner pada responden serta menemani responden sewaktu mengisi lembar kuesioner.
- d. Peneliti meminta kuesioner yang sudah diisi serta memohon responden untuk mengisi kembali kuisioner yang belum lengkap.

2. Alat dan Bahan Pemeriksaan Aktivitas Kolinesterase

a. Alat

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 1) Spuit 3 ml | 8) Yellow Tip |
| 2) Tabung gel serum (SST) | 9) Kapas Alkohol |
| 3) Kenza TX-240 | 12) Kapas Kering |
| 4) Mikro Pipet | 13) Mikro Tube |
| 5) Tourniquet | 14) Cool Box |
| 6) Kuvet | 15) Cup Sampel Kenza TX-240 |
| 7) Blue Tip | |

b. Bahan

- 1) Sampel darah vena
- 2) Aquadest
- 3) Reagen untuk pemeriksaan kolinesterase menggunakan teknik

IFCC(*International Federation Of Clinical Chemistry*) adalah:

- Reagen 1:

Pyrophosphate pH 7,6	75 mmol/l
Potassium Hexacyanoferrate	2 mmol/l

- Reagen 2:

Butyrylthiocholine	15 mmol/l
--------------------	-----------

3. Alat dan Bahan Pemeriksaan Aktivitas SGPT dan SGOT

a. Alat

- | | |
|---------------|--------------------|
| 1) Spuit 3ml | 6) Tabung Reaksi |
| 2) Tourniquet | 7) KENZA TX-240 |
| 3) Mikropipet | 8) Centrifuge |
| 4) Blue Tip | 9) Kertas Kering |
| 5) Yellow Tip | 10) Kertas Alkohol |

b. Bahan

- 1) Sampel darah vena
- 2) Reagen SGPT

- Reagen 1:

TRIS	pH 7.15	140 mmol/l
L-Alanine		700 mmol/l
LDH(Lactate dehydrogenase)		≥2300 mmol/l

- Reagen 2:

2-Oxoglutarate		85 mmol/l
NADH		1 mmol/l
Pyridoxal-5-Phosphate FS		
Buffer	pH 9.6	100 mmol/l

Pyridoxal-5-Phosphate

13 mmol/l

4. Prosedur Pemeriksaan Laboratorium

a. Prosedur Pengambilan Darah Vena

Bersihkan tempat tusukan dengan alkohol 70% dan biarkan sampai menjadi kering lagi. Jika memakai vena dalam fossa cubiti; pasanglah ikatan pembendung pada lengan atas dan mintalah orang itu mengempal dan membuka tangannya berkali-kali agar vena jelas terlihat. Pembendungan vena tidak perlu dengan ikatan erat-erat, bahkan sebaiknya hanya cukup erat untuk memperlihatkan dan agak menonjolkan vena. Tegangkanlah kulit di atas venaitu dengan jari-jari tangan kiri supaya vena tidak dapat bergerak. Tusuklah kulit dengan jarum dan semprit dalam tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena. Lepaskan atau renggangkan pembendungan dan perlahan-lahanlah tarik pengisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat. Lepaskan pembendungan jika masih terpasang. Taruhlah kapas di atas jarum dan cabutlah semprit dan jarum itu. Mintalah kepada orang yang darahnya diambil supaya tempat tusukan itu ditekan selama beberapa menit dengan kapas tadi. Angkatlah jarum dari semprit dan alirkanlah (jangan semprotkan) darah ke dalam wadah atau tabung yang tersedia melalui dinding. Segeralah cuci jarum dan semprit sebelum darah sempat membeku, jika alat-alat tadi akan dipakai lagi. (Gandasoebrata, 2010).

b. Pemeriksaan Kolinesterase Menggunakan Alat Kenza TX-240

1. Disiapkan reagen dan sampel pada suhu ruang.
2. Hidupkan alat Kenza TX-240 serta program pada computer, pastikan kabel antara alat dan computer telah tersambung.
3. Pastikan alat dalam keadaan siap digunakan dan telah dilakukan quality control sebelum dilakukan pemeriksaan.
4. Pilih menu patient - patient entry, lalu isi data pasien yang ada pada blanko pemeriksaan dan pilih parameter CHE (Cholinesterase).
5. Pindahkan sampel serum ke dalam cup sampel dan diberi nama / kode. Kemudian letakkan pada tray sampel yang terdapat pada alat

sesuai dengan nomor order.

6. Pilih menu start - select test - pilih parameter yang akan diperiksa – continue – calibration + sample. Lalu alat akan mengecek volume reagen yang ada dan mulai melakukan pemeriksaan.
7. Hasil akan muncul dalam waktu 5 menit.
8. Catat hasil pemeriksaan

c. Prosedur Pemeriksaan SGPT

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- 2) Terlebih dahulu siapkan monoreagen dengan menambahkan Reagen 1 ditambah Reagen 2 dengan perbandingan 4/1 (R1 400 μ l ditambah R2 100 μ l)
- 3) Pastikan fotometer dalam kondisi ready dengan Panjang gelombang 340 nm dan suhu 37°C, kemudian memilih program pemeriksaan SGPT
- 4) Pipet 500 μ l reagen SGPT dan tambahkan 50 μ l serum dan campur hingga merata
- 5) Baca tingkat aktivitas absorbansi dengan panjang gelombang 546 nm pada alat fotometer

Nilai rujukan:

- a. Laki-laki: ≤ 45 U/L
- b. Perempuan: ≤ 34 U/L

d. Prosedur Pemeriksaan SGOT

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- 2) Terlebih dahulu siapkan monoreagen dengan menambahkan Reagen 1 ditambah Reagen 2 dengan perbandingan 4/1 (R1 400 μ l ditambah R2 100 μ l)
- 3) Pastikan fotometer dalam kondisi ready dengan Panjang gelombang 340 nm dan suhu 37°C, kemudian memilih program pemeriksaan SGPT
- 4) Pipet 500 μ l reagen SGPT dan tambahkan 50 μ l serum lalu dicampur hingga merata
- 5) Baca tingkat aktivitas absorbansi dengan panjang gelombang 546 nm

pada alat fotometer

Nilai rujukan:

- a. Laki-laki: ≤ 35 U/L
- b. Perempuan: ≤ 31 U/L

e. Prinsip Pemeriksaan Aktivitas kolinesterase

Butyrylthiocholine + H₂O $\xrightarrow{\text{kolinesterase}}$ Thiocholine + butyrate

2Thiocholine + 2[Fe(CN)₆]³⁻ + H₂O \longrightarrow Choline + 2[Fe(CN)₆]⁴⁻ + H₂O

f. Prinsip Pemeriksaan SGPT

L-alanine + 2- $\xrightarrow{\text{ALAT}}$ oxoglutarate L-glutamate + piruvat

Piruvat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ D-lactate + NAD⁺ (Bonora R, 2002)

g. Prinsip Pemeriksaan SGOT

L-asparate + 2-oxoglutarate $\xrightarrow{\text{ASAT}}$ L-glutamate + oxaloacetat

Oxaloacetat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ L-Malate + NAD⁺

1) Siapkan serum darah

- a. Masukkan tabung vacutainer ke dalam centrifuge
- b. Sentrifuge darah pada kecepatan 3500 rpm selama 3 menit, setelah itu diambil serum darah dan dipisahkan dari bagian darah yang lain.
- c. Pindahkan serum darah ke dalam mikro tube menggunakan mikropipet.

2) Siapkan waterbath

- a. Isi air di waterbath
- b. Nyalakan waterbath lalu atur ke suhu 37°C.

3) Siapkan alat Fotometer

- a. Menyalakan alat.
- b. Tunggu perintah “*distilled water test please aspirate*”
- c. Pilih tulisan CHOL di menu selanjutnya pencet ”ok”.

4) Prosedur Kerja Mengukur Aktivitas Kolinesterase

- a. Campurkan 20 μ l serum darah dengan 1000 μ l Reagen 1 dan 20 μ l Aquadest menjadi blanko lalu inkubasi larutan di suhu 37°C.
- b. Kemudian tambahkan larutan tersebut dengan Reagen 2 sebanyak 250 μ l dan melakukan inkubasi larutan campuran

sewaktu 2 menit ke dalam waterbath.

- c. Larutan reagen sampel ditempatkan di fotometer pada panjang gelombang 405nm.
- d. Tunggu hingga hasil pemeriksaan muncul lalu catat hasil yang muncul di layar.

Nilai Rujukan:

- a. Laki-laki: 4620 – 11500 U/L
- b. Perempuan: 3990 – 10800 U/L

h. Pemeriksaan Kolinesterase Menggunakan Alat Kenza TX-240

1. Disiapkan reagen dan sampel pada suhu ruang.
2. Hidupkan alat Kenza TX-240 serta program pada computer, pastikan kabel antara alat dan computer telah tersambung.
3. Pastikan alat dalam keadaan siap digunakan dan telah dilakukan quality control sebelum dilakukan pemeriksaan.
4. Pilih menu patient - patient entry, lalu isi data pasien yang ada pada blanko pemeriksaan dan pilih parameter CHE (Cholinesterase).
5. Pindahkan sampel serum ke dalam cup sampel dan diberi nama / kode. Kemudian letakkan pada tray sampel yang terdapat pada alat sesuai dengan nomor order.
6. Pilih menu start - select test - pilih parameter yang akan diperiksa – continue – calibration + sample. Lalu alat akan mengecek volume reagen yang ada dan mulai melakukan pemeriksaan.
7. Hasil akan muncul dalam waktu 5 menit.
8. Catat hasil pemeriksaan

i. Pemeriksaan SGPT Menggunakan Alat Kenza TX-240

1. Disiapkan cup sampel dan beri label identitas pada cup sampel.
2. Masukkan sampel ke dalam cup sampel \pm 300 U/L. Klik patient entry kemudian masukkan identitas pasien dan pilih parameter pemeriksaan SGPT.
3. Letakkan cup sampel pada tray kenza di nomor yang sesuai pada nomor patient entry saat meng entry data dan parameter pemeriksaan

pasien.

4. Klik exit sampai muncul menu awal (tray kenza akan berwarna hijau setelah cup sampel diletakkan pada tray kenza).
 5. Pastikan reagen SGPT sudah ada pada tempatnya.
 6. Kemudian pilih start lalu pilih select test (untuk memilih parameter pemeriksaan yang akan di running (diperiksa) yaitu SGPT).
 7. Kemudian pilih calibration + patient dan alat akan mulai bekerja.
 8. Tunggu beberapa saat hingga hasil akan muncul pada komputer.
 9. Catat hasil pemeriksaan.
- j. Pemeriksaan SGOT Menggunakan Alat Kenza TX-240
1. Disiapkan cup sampel dan beri label identitas pada cup sampel.
 2. Masukkan sampel ke dalam cup sampel \pm 300 U/L. Klik patient entry kemudian masukkan identitas pasien dan pilih parameter pemeriksaan SGOT.
 3. Letakkan cup sampel pada tray kenza di nomor yang sesuai pada nomor entry saat meng entry data dan parameter pemeriksaan pasien.
 4. Klik exit sampai muncul menu awal (tray kenza akan berwarna hijau di salah satu nomor tempat meletakkan sampel setelah pemeriksaan diorder).
 5. Pastikan reagen SGOT sudah ada pada tempatnya.
 6. Kemudian pilih start lalu pilih select test (untuk memilih parameter pemeriksaan yang akan di running (diperiksa) yaitu SGOT).
 7. Kemudian pilih calibration + patient dan alat akan mulai bekerja.
 8. Tunggu hingga hasil Pemeriksaan SGOT muncul.
 9. Catat hasil Pemeriksaan.

F. Pengolahan dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

- a. Editing, yaitu meneliti dan memeriksa data yang didapatkan
- b. Coding, yaitu memberikan kode pada sampel yang dikaji agar mempermudah ketika memasukkan data ke dalam program komputer.
- c. Entry, yaitu memasukkan data jawaban responden yang diperoleh pada kuesioner tentang aktivitas kolinesterase dan aktivitas SGPT dan SGOT

pada petani untuk diolah dengan menggunakan program komputer.

2. Analisis Data

Dalam penelitian ini analisis data adalah untuk menguji hubungan aktivitas kolinesterase dengan aktivitas SGPT dan SGOT akibat pajanan pestisida pada petani di Desa Tanjungsari Kecamatan Natar. Uji yang digunakan adalah uji Korelasi Pearson dengan program komputer SPSS versi 26.