

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen yang bersifat analitik dalam bidang Toksikologi-Hematologi dengan desain *cross-sectional*. Variabel penelitian ini yaitu variabel bebas hubungan aktivitas enzim koinesterase dan dengan variabel terikatnya yaitu parameter anemia (Hemoglobin, Hematokrit dan Jumlah Eritrosit) pada petani yang menggunakan pestisida golongan organofosfat di desa Margodadi kecamatan Jati Agung Lampung Selatan.

B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada petani di desa Margodadi kecamatan Jati Agung Lampung Selatan dan pemeriksaan spesimen dilakukan di Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2023.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh petani yang menggunakan pestisida, sebanyak 25 petani yang ada di desa Margodadi kecamatan Jati Agung Lampung Selatan.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini berjumlah 25 petani yang terpajan pestisida.

3. Kriteria Sampel

Kriteria inklusi:

- a) Berjenis kelamin laki-laki.
- b) Lama bekerja sebagai penyemprot pestisida ± 3 bulan
- c) Petani yang melakukan penyemprotan pestisida golongan organofosfat lebih dari 1 jam dalam sehari.
- d) Telah bersedia untuk menjadi responden penelitian.

Kriteria Eksklusi :

- a) Memiliki riwayat Hepatitis.
- b) Sedang mengalami keadaan anemia.
- c) Petani yang tidak menggunakan pestisida.
- d) Petani yang tidak bersedia menjadi sampel penelitian.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Aktivitas enzim kolinesterase	Aktivitas enzim kolinesterase dalam darah pada petani sayur di desa Margodadi kecamatan Jati Agung.	Automatic Biochemistry Analyzer	U/L	Rasio
2.	Hemoglobin	Hemoglobin dalam darah pada petani sayur di desa Margodadi kecamatan Jati Agung.	Hematology Analyzer	gr/dl	Rasio
3.	Hematokrit	Hematokrit dalam darah pada petani sayur di desa Margodadi kecamatan Jati Agung.	Hematology Analyzer	%	Rasio
4.	Jumlah Eritrosit	Jumlah eritrosit dalam darah pada petani sayur di desa Margodadi kecamatan Jati Agung.	Hematology Analyzer	10 ⁶ /ul	Rasio

E. Pengumpulan Data

1. Diajukan surat izin penelitian ke Poltekkes Tanjungkarang.
2. Diserahkan surat izin penelitian Kesbangpol.
3. Meminta izin kepada Kepala Desa dengan memberikan lampiran surat izin Tanjungkarang.
4. Menentukan sampel
Menjelaskan tujuan penelitian dan memberikan kuisisioner untuk mendapatkan sampel penelitian sesuai dengan kriteria sampel serta memberi kesediaan menjadi responden bagi seluruh subyek penelitian.

5. Alat dan Bahan Pemeriksaan

a. Alat

Alat yang dipakai dalam penelitian meliputi tip kuning, tip biru, mikropipet, tabung reaksi, tourniquet, spuit, kapas alkohol 70%, plester, cool box, alat kimia Kenza TX-240 dan hematology analyzer.

b. Bahan

Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah aquadest, sampel dan reagen.

Tabel 3.2 (Stabilitas waktu dan suhu pada penyimpanan sampel serum)

Sampel Serum			
Stabilitas:	1 minggu	Pada suhu	15 - 25 °C
	2 minggu	Pada suhu	2 - 8 °C
	6 bulan	Pada suhu	-20 °C

Tabel 3.3 (Komponen dan Konsentrasi Reagen Kolinesterase)

Reagen 1 :	Pyrophosphate Ph 7,6	95 mmol
	Potasium hexacyanoferate (III)	2,5 mmol
Reagen 2 :	Butyrylthiocholin	75 mmol

6. Pengambilan sampel

Metode Pengambilan Darah Vena Mediana Cubiti

- Melakukan perabaan (palpasi) bagian lipatan siku bertujuan memastikan posisi vena; vena terasa bagai sebuah pipa kecil, elastis serta memiliki dinding tebal.
- Dibersihkan kulit pada bagian vena akan diambil dengan kapas alkohol 70% dan biarkan sampai kering.
- Lalu pasang tourniquet pada lengan atas kiranya 10 cm berjarak 3 jari di atas lipatan siku serta minta orang tersebut membuka tangannya agar vena terlihat jelas.
- Ditekan kulit di atas vena itu menggunakan jari-jari tangan kiri supaya vena tidak dapat bergerak.
- Ditusuk kulit menggunakan jarum sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena.

- f. Lalu diepaskan atau direganggalkan pembendungan perlahan-lahan Tarik pendorong jarum suntik sampai jumlah darah yang diinginkan diperoleh .
 - g. Kapas diletakkan di atas jarum dan tarik jarum keluar.
 - h. Tuangkan darah ke dalam tabung melalui dinding tabung (jangan disemprot). (Gandasoebrata, 2010).
7. Penanganan Sampel
- a. Darah yang telah siap didalam tabung disimpan dalam icebox sampel darah kemudian dapat dibawa ke klinik Pramitra Biolab Indonesia.
 - b. Disentrifugasi hingga 10 menit darah tersebut dengan kecepatan 3000 rpm hingga terbentuk serum.
 - c. Dipisahkan serum yang telah terbentuk dengan eritrosit.
8. Pemeriksaan Enzim Kolinesterase
- a. Metode :
Tes fotometrik kinetik, metode standar berdasarkan *German Society of Clinical Chemistry* (DGKC).
 - b. Prinsip Kerja :
Kolinesterase menghidrolisis butyrylthiocholin menghasilkan butyric acid dan thiocholin. Thiocholin mereduksi potassium hexacyanoferrat (III) berwarna kuning menjadi potassium hexacyanoferrat (II) tak berwarna.
 - c. Reaksi Kerja :

$$\text{Butyrylthiocholine} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{kolinesterase}} \text{Thiocholine} + \text{butyrate}$$

$$2 \text{ thiocholine} + 2 [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{choline} + 2 [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} + \text{H}_2\text{O}$$
 - d. Nilai Rujukan
Laki-laki : 4620 – 11500 IU/L
Perempuan : 3930 – 10800 IU/L
(Banday et al., 2015)
9. Pemeriksaan Kolinesterase (Kenza TX-240)
- a. Disiapkan reagen sampel pada suhu ruang
 - b. Hidupkan alat Kenza TX-240 serta program pada computer, pastikan kabel antara alat dan computer telah tersambung.

- c. Pastikan alat dalam keadaan siap digunakan dan telah dilakukan quality control sebelum dilakukan pemeriksaan.
 - d. Pilih menu patient lalu pasien entry, lalu isi data pasien yang ada pada blanko pemeriksaan dan pilih parameter CHE (Cholinesterase).
 - e. Pindahkan sampel serum ke dalam cup sampel dan diberi nama/ kode. Kemudian letakkan pada tray sampel yang terdapat pada alat sesuai dengan nomor order.
 - f. 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.
 - g. Hasil akan muncul dalam waktu 5 menit.
 - h. Catat hasil pemeriksaan
 - i. Lakukan hal yang sama dari point sampel jika datang sampel yang baru.
10. Pemeriksaan Darah Rutin Hematology Analyzer (Mindray bc 3600)
- a. Sambungkan alat hematologi analyzer dengan listrik. Tekan tombol power mode on. Sebelum melakukan pemeriksaan, pastikan alat hematology analyzer sudah dilakukan control alat, pastikan indicator analisa berwarna hijau dan atur mode kerja menjadi “whole blood”
 - b. Saat sampel datang, homogenkan sampel dengan cara diletakkan sampel pada rotator.
 - c. Pada tampilan utama layar alat “klik analysis” pada menu alat untuk memulai menganalisa sampel. Klik “patient demographic” untuk mengisi identitas sampel, lalu klik “ok” untuk menyimpan identitas sampel.
 - d. Buka tabung sampel, letakkan dibawah probe sampel, posisikan jarum probe pada bagian tengah tabung sampel.
 - e. Tekan tombol aspirasi untuk memulai analisis, indikator berkedip hijau, menandakan penganalisis sedang berjalan.
 - f. Probe sampel akan secara otomatis mengambil sampel 17ul. Ketika ada suara “bip” dan probe terangkat, tabung sampel diletakkan pada rotator kembali. Analyzer akan secara otomatis menjalankan sampel ketika analisis sesuai, probe sampel kembali ke posisi semula.

- g. Hasil akan ditampilkan di layar alat, dan akan tercetak secara otomatis, dan hasil akan otomatis dikirm ke LIS.
- h. Lakukan hal yang sama dari point sampel datang jika ada sampel baru

F. Pengolahan dan Analisis Data

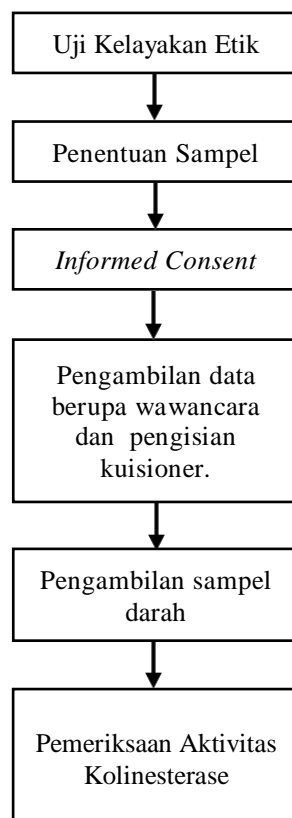
1. Pengolahan Data

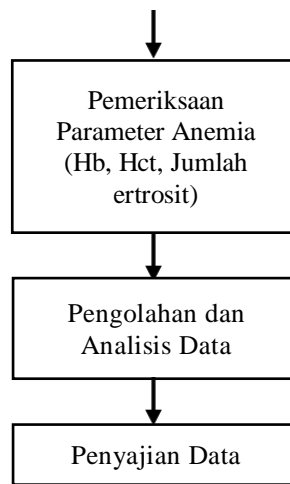
- a. Editing, yaitu meneliti dan memeriksa data yang didapatkan
- b. Coding, yaitu memberikan kode pada sampel yang dikaji agar mempermudah ketika memasukkan data ke dalam program komputer.
- c. Entry, yaitu memasukkan data jawaban responden yang diperoleh pada kuesioner tentang aktivitas kolinesterase terhadap parameter anemia pada petani untuk diolah dengan menggunakan program komputer.

2. Analisis Data

Dalam penelitian ini analisa data adalah untuk menguji hubungan aktivitas kolinesterase terhadap parameter anemia pada petani di Kecamatan Jati Agung. Uji yang digunakan adalah uji Korelasi Pearson dengan program komputer SPSS.

G. Alur Penelitian





Gambar 3.1 Alur Penelitian