

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Ilmu

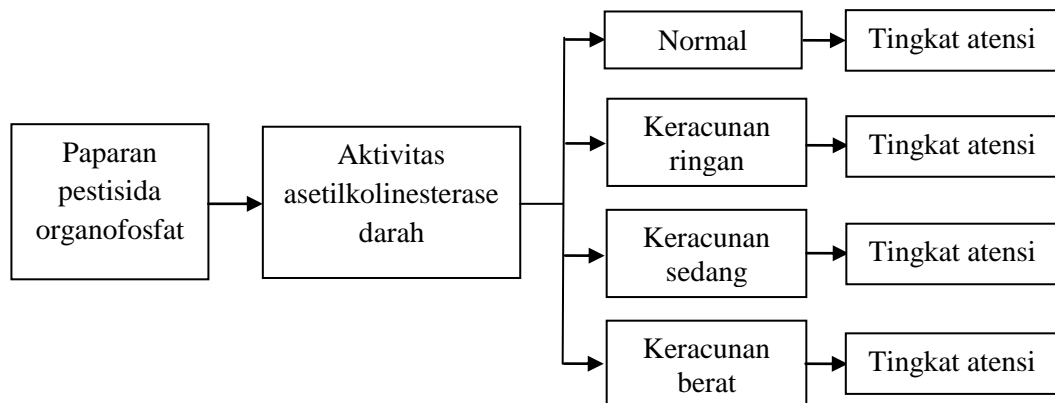
Penelitian ini mencakup bidang fisiologi dan farmakologi-toksikologi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara pada Bulan Mei 2017.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan rancangan belah lintang, digambarkan sebagai berikut.



Gambar 7. Rancangan Penelitian

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

Petani kentang yang terpapar organofosfat secara kronik.

3.4.2 Populasi Terjangkau

Petani kentang yang terpapar organofosfat secara kronik di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara.

3.4.3 Sampel

Petani kentang yang menggunakan pestisida organofosfat di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

1) Kriteria inklusi

- Menetap selama \geq dua tahun di Desa Kepakisan Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara
- Jenis kelamin laki-laki
- Usia antara 18-59 tahun
- Melakukan penyemprotan pestisida organofosfat selama \geq dua tahun
- Memiliki Indeks Massa Tubuh (IMT) \geq 18,5
- Tingkat pendidikan minimal SD atau sederajat
- Kadar hemoglobin \geq 12,5gr/dL

2) Kriteria eksklusi

- Adanya kelainan neuropsikiatri
- Adanya riwayat kebiasaan minum minuman beralkohol
- Adanya gangguan hepar ataupun ginjal
- Adanya riwayat pemakaian obat penghambat/pemicu asetilkolinesterase
- Menolak untuk diikutsertakan 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 dan hipotesis yang diajukan, besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel untuk uji korelasi. Besar kesalahan tipe I adalah 5% ($Z\alpha=1,96$), kesalahan tipe II sebesar 20% ($Z\beta=0,842$) dan besarnya koefisien korelasi antara aktivitas asetilkolinesterase yang 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:

$z\alpha$ = kesalahan tipe I (α 5% = 1,96)

$z\beta$ = kesalahan tipe II (β 20% = 0,842)

r = koefisien korelasi (0,5 = korelasi derajat sedang)

Apabila diperkirakan terjadinya *drop out* sebesar 10% maka besar sampel dengan koreksi *drop out* adalah sebagai berikut:

$$ndo = \frac{n}{1 - do} = \frac{29,02}{1 - 0,1} = 32,24 \approx 33$$

Berdasarkan perhitungan sampel tersebut, 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 penelitian ini adalah aktivitas asetilkolinesterase darah.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah tingkat atensi.

3.5.3. Variabel Perancu

Variabel perancu penelitian ini adalah:

- 1) Dosis pestisida
- 2) Masa kerja
- 3) Frekuensi penyemprotan
- 4) Lama kerja per hari
- 5) Pemakaian APD

3.6. Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1	Aktivitas Asetilkolinesterase Darah <p>Besar kadar enzim asetilkolinesterase darah yang diperiksa semikuantitatif dengan Tintometer kit. Kategori penilaian aktivitas asetilkolinesterase darah:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Normal : AChE 100-75% 2. Keracunan ringan : AChE 75-50% 3. Keracunan sedang: AChE 25-50% 4. Keracunan berat: AChE 0- 25% 	-	Ordinal
2	Tingkat Atensi <p>Kemampuan memunculkan dan mempertahankan kondisi siaga untuk menerima dan menyeleksi informasi yang datang disertai dengan upaya penyelesaian masalah yang muncul dari informasi yang diterima. Terdiri dari 3 komponen yaitu <i>alerting</i>, <i>orienting</i> dan <i>executive control</i> yang diukur dengan instrumen <i>Attention Network Test</i>.</p>	Milidetik	Numerik

Tabel 2. Definisi operasional (lanjutan)

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	Masa Kerja Satuan waktu dalam tahun yang menyatakan periode terjadinya kontak/paparan dengan pestisida organofosfat baik di area pertanian maupun rumah	Tahun	Numerik
5	Frekuensi Penyemprotan Jumlah terjadinya kontak dengan pestisida organofosfat dalam satu minggu 1. Satu kali seminggu 2. Lebih dari 1 kali seminggu	-	Nominal
6	Lama Kerja per Hari Satuan waktu dalam jam yang menyatakan lamanya terpajan pestisida organofosfat per hari di daerah pertanian ketika penyemprotan ataupun di rumah ketika penyimpanan dan pengelolaan 1. > 8 jam per hari 2. ≤ 8 jam per hari	Jam	Nominal

Tabel 2. Definisi operasional (lanjutan)

No	Variabel	Unit	Skala
7	<p>Pemakaian APD</p> <p>Penggunaan alat pelindung diri (topi/helm, kacamata, masker, sarung tangan, sepatu, pakaian pelindung) oleh subjek penelitian saat bekerja, diketahui dari wawancara dan data kuesioner</p> <p>1. Pemakaian APD lengkap</p> <p>2. Pemakaian APD tidak lengkap</p>	-	Nominal

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- 1) Darah vena
- 2) Kapas
- 3) Alkohol

3.7.2 Alat

- 1) Kuesioner
- 2) Alat untuk pengukuran aktivitas asetilkolinesterase : *Tintometer Lovibond AF267 kit*
- 3) Timbangan badan
- 4) *Medline*
- 5) Komputer yang sudah terpasang aplikasi *Attention Network Test*

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer yang langsung didapatkan dari subjek penelitian. Data primer tersebut berupa data aktivitas enzim asetilkolinesterase darah dan atensi responden.

3.7.4 Cara Kerja

Seleksi sampel dilakukan dengan menggunakan kuesioner. Populasi yang memenuhi kriteria inklusi tanpa ada kriteria eksklusi ditetapkan sebagai sampel setelah mendapat penjelasan tentang penelitian dan menyetujui *informed consent* yang diberikan. Pengukuran berat badan, tinggi badan, pengambilan sampel darah vena untuk mengetahui aktivitas asetilkolinesterase serta pemeriksaan atensi dilakukan pada saat pasien tiba di tempat yang dipersiapkan.

1) Pemeriksaan aktivitas asetilkolinesterase darah⁴³

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 *Acethylcholine perchlorat* dan aquadestilata), dan aquadestilata.

b. Penentuan kadar kolinesterase darah sampel

• Tes reagen

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. 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%.

- Sampling darah

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. 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.

- Penambahan Larutan Substrat

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.

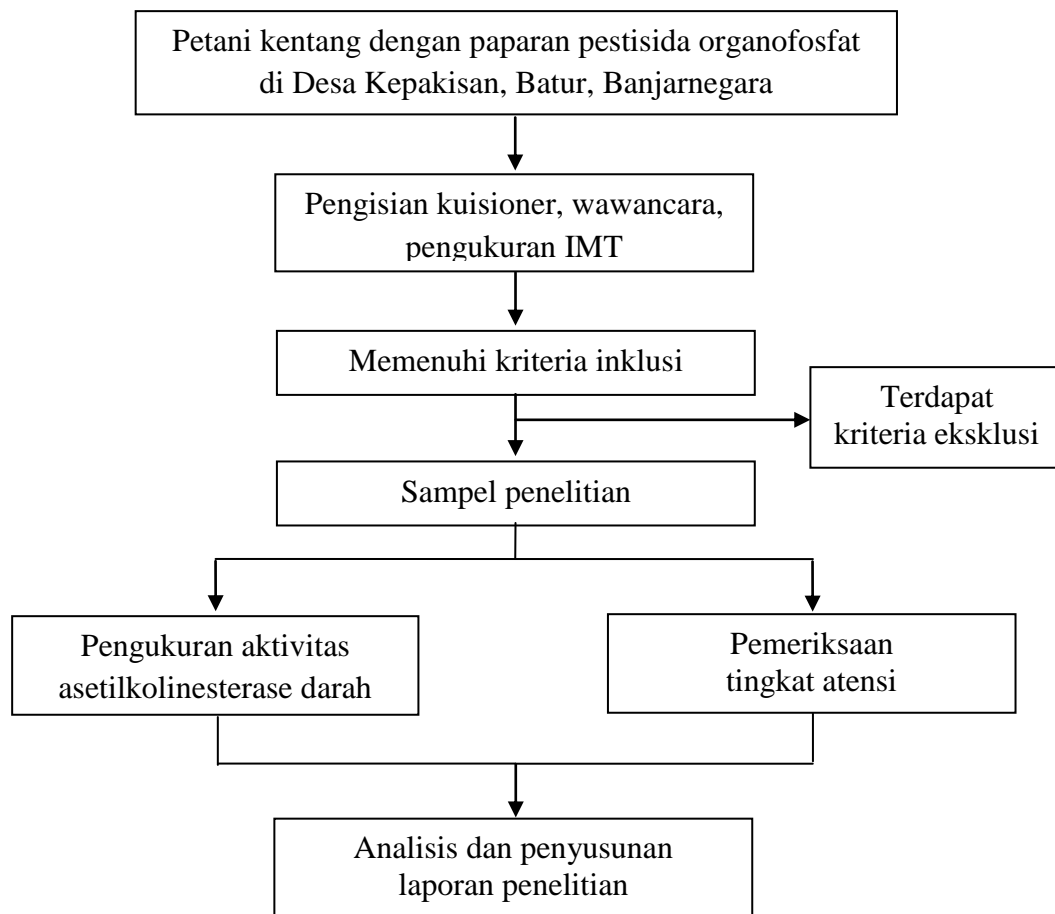
Tabung segera ditutup. Warna dari sampel kontrol yang berada dalam komparator diperiksa dan ditunggu sampai campuran dalam kuvet mencapai 100% warna aktif, yang tergantung pada suhu ruangan, dan waktunya dicatat. Selanjutnya campuran dalam kuvet kontrol dibuang, setiap 1 menit isi dari tabung-tabung 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.

2) Pengukuran atensi

Penilaian atensi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Attention Network Test* yang terpasang pada komputer. Rangkaian pemeriksaan berlangsung selama ± 20 menit.

- a. Membuka aplikasi *Attention Network Test*
- b. Subjek penelitian diminta untuk menekan tombol yang sesuai dengan target yang muncul, secepat dan seakurat mungkin
- c. Hasil pemeriksaan berupa waktu yang dibutuhkan dari awal kemunculan target hingga respon subjek menekan tombol.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

3.9 Analisis Data

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

Analisis data meliputi analisis deskripsi dan uji hipotesis. Pada analisis deskripsi, data yang berskala kategorial seperti kategori 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

numerik seperti masa kerja dan tingkat atensi dinyatakan dalam nilai median karena data berdistribusi tidak normal. Normalitas distribusi data dianalisis dengan uji Saphiro-Wilk karena besar subjek dalam penelitian ini termasuk kecil (<50 subjek).

Uji hipotesis dilakukan untuk menilai hubungan antara aktivitas asetilkolinesterase dengan tingkat atensi yang dianalisis dengan uji korelasi Spearman dengan nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0,05$.

3.10 Etika Penelitian

Protokol penelitian telah disetujui Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan dikeluarkannya lembar *Ethical Clearance* nomor 187/EC/FK-RSDK/IV/2017 pada 27 April 2017.

Calon subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi tanpa adanya kriteria eksklusi, telah diberikan penjelasan lengkap mengenai prosedur penelitian, tujuan dan manfaat penelitian. Calon subjek berhak menentukan keikutsertaannya 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, telah diminta menandatangani persetujuan dalam bentuk *informed consent* tertulis (Persetujuan Setelah Penjelasan/PSP).

Identitas subjek penelitian dirahasiakan dan tidak dipublikasikan tanpa izin dari yang bersangkutan. Seluruh biaya penelitian ditanggung oleh peneliti dan subjek penelitian telah diberikan imbalan sesuai dengan kemampuan peneliti.