

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif, bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai tingkat cholinesterase dalam darah dengan menerapkan metode cholinesterase kit. Sementara itu, untuk memahami keluhan kesehatan, usia, dan durasi bertani, teknik wawancara dan observasi dengan dukungan kuesioner digunakan untuk mengidentifikasi tingkat keracunan.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilaksanakan di Desa Bismarak, Dusun III. Kecamatan Nekamese, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Tempat Uji Kadar *cholinesterase* akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Program Studi Teknik Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2024 hingga bulan April 2024.

C. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian yaitu karakteristik jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan, jenis pertanian, masa kerja dan jenis pestisida yang digunakan, pengalaman latihan penggunaan pestisida serta gambaran kadar cholinesterase.

D. Populasi

Populasi dalam konteks penelitian merujuk pada keseluruhan unit atau individu yang memiliki karakteristik tertentu dan menjadi obyek atau sumber data untuk suatu penelitian

(Tangkelangi dan Rantesalu, 2023). Adapun populasi dalam penelitian ini seluruh petani yang terdapat di Dusun III yang terdiri dari 6 RT (Rukun Tetangga), Desa Bismarak Kecamatan Nekamese Kabupaten Kupang yang berjumlah 85 orang.

E. Sampel

Sampel penelitian adalah sebagian kecil dari populasi yang diambil untuk dianalisis dalam suatu penelitian. Teknik sampling untuk mengetahui jumlah sampel responden rumah tangga dari setiap area sampel menggunakan metode *Proportional stratified random sampling*. Teknik ini membagi populasi menjadi beberapa strata atau subkelompok yang homogen, kemudian mengambil sampel dari setiap strata secara acak dan proporsional sesuai dengan ukuran setiap strata dalam populasi. Oleh karena itu, dilakukan pengambilan sampel pada penelitian ini sebanyak 30 sampel dengan pembagian 5 orang per RT.

F. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Instrumen	Kategori
Cholinesterase	Kolinesterase merupakan suatu enzim yang berperan dalam proses hidrolisis	Pemeriksaan Laboratorium	1. Tidak Normal (<5320 U/L untuk laki-laki, <4260 U/L

	neurotransmitter acetylcholine (ACh) menjadi kolin dan asam asetat (Sari et al., 2018).		untuk perempuan) 2. Normal (>5320 U/L untuk laki-laki, >4260 U/L untuk perempuan) (Devi, 2019)
Jenis Pertanian	Jenis pertanian merujuk pada metode atau sistem produksi tanaman dan ternak yang berbeda dalam praktik budidaya pertanian.	Kuesioner	1. Palawija 2. Hortikultura
Jenis Kelamin	Merujuk pada perbedaan biologis antara laki-laki dan perempuan yang melibatkan karakteristik seksual dan reproduksi khas masing-masing (Shinta dan Sonata, 2018)	Kuesioner	1. Laki-Laki 2. Perempuan
Usia	Merupakan lama waktu hidup responden terhitung mulai saat dia dilahirkan hingga dilakukan penelitian.	Kuesioner	1. 25-30 tahun 2. 31-40 tahun 3. 41-50 tahun 4. 51-60 tahun
Tingkat Pendidikan	Merupakan tahapan pendidikan terakhir yang ditempuh secara formal oleh responden	Kuesioner	1. Rendah (Tidak sekolah – SD) 2. Menengah (SMP-SMA)
Masa kerja	Merupakan lamanya responden bekerja menjadi petani.	Kuesioner	1. ≤ 5 tahun 2. > 5 tahun
Volume Kerja	Merupakan lamanya	Kuesioner	1. ≤ 5 Jam/Hari

	responden bekerja dalam sehari.		2. > 5 Jam/Hari (Damayanti et al.,2020)
Jenis Pestisida	Jenis pestisida merujuk pada klasifikasi berbagai zat kimia yang digunakan untuk mengendalikan hama, gulma, dan penyakit tanaman.	Kuesioner	1. Nematisida 2. Insektisida
Pengalaman Pelatihan Penggunaan Pestisida	Pengalaman praktis dalam menggunakan pestisida untuk melawan hama atau gangguan tanaman dalam konteks pertanian atau kebun.	Kuesioner	0. Tidak ada 1. Ada

G. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel Darah

Prosedur pengambilan darah dari vena dimulai dengan membersihkan area tusukan menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya, tourniquet dipasang di lengan atas untuk mempermudah pengambilan darah dari vena di fossa cubiti. Pasien diminta untuk menggenggam dan membuka tangan secara berulang-ulang untuk memperjelas vena. Area mediana cubiti kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%, dari dalam ke luar, dan dibiarkan mengering. Setelah itu, kulit di sekitar vena ditusuk dengan jarum pada area mediana cubiti, memastikan ujung jarum masuk ke dalam pembuluh vena. Tourniquet dilepaskan setelah darah mulai mengalir ke dalam spuit. Pasien diminta untuk membuka tangan secara perlahan. Begitu volume darah yang diinginkan terkumpul, jarum ditarik keluar dan kapas ditempatkan di atas tusukan

dengan sedikit tekanan selama 2 menit. Jika pemeriksaan ditunda, sampel darah dapat disimpan pada suhu 4°C dan dapat bertahan hingga 1 minggu (Devi,2019).

2. Pemisahan Eritrosit dan Plasma Darah

instrumen dan bahan yang akan dipakai disiapkan terlebih dahulu. Darah yang terdapat dalam vakum tainer dimasukkan ke dalam sentrifus, lalu disentrifus dengan menggunakan Sentrifus Merk TOMY Tipe MX-105 selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm. Selanjutnya, eritrosit yang telah terpisah dari plasma diambil dan ditempatkan dalam tabung reaksi (Harina, 2017)

3. Pengujian Kadar Kolinesterase

Eritrosit yang telah dipisahkan dari plasma kemudian dicampur dengan air deionisasi hingga mencapai volume awal darah. Campuran tersebut selanjutnya diencerkan 60 kali menggunakan buffer fosfat 0,1 M dengan pH 7,4, kemudian dibekukan untuk menginduksi hemolisis. Setelah proses pembekuan, campuran dicairkan kembali dan diencerkan dengan buffer sebanyak 9 kali. Kemudian, reagen thiol 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) {DTNB} (dengan konsentrasi DTNB sebesar 0,33 mM) ditambahkan, dan campuran dibiarkan selama 10 menit. Setelah itu, substrat ATCh (dengan konsentrasi ATCh sebesar 1,0 mM) ditambahkan ke dalam campuran, dan hasilnya diukur dengan absorbansi 412 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis GENESYSTEM 10S-Thermo Fisher Scientific, dengan menggunakan blank yang mengandung hemolisis eritrosit dalam buffer (Devi,2019).

Rentang normal aktivitas kolinesterase berkisar antara 4.620 hingga 11.500 unit per liter (U/L). Kadar kolinesterase yang lebih tinggi mengindikasikan kondisi yang lebih baik, karena fungsi kolinesterase adalah mengubah asetilkolin menjadi asetat dan

kolin, yang pada gilirannya mencegah penumpukan asetilkolin. Sebaliknya, jika kadar kolinesterase rendah, kurang dari 4.620 U/L, dapat menunjukkan adanya gejala keracunan karena terjadi akumulasi asetilkolin (Wulandari dan Santoso,2020).

H. Analisa Data

1. Insidensi menunjukkan kasus baru yang ada di Populasi. Insidensi juga merupakan kejadian (kasus) yang baru saja memasuki fase klinik dalam riwayat alamiah penyakit. Insidensi dinyatakan dalam satuan angka insidensi. Rumus Insidensi adalah:

$$\text{Angka Insidensi} : \frac{\sum \text{Kejadian Baru}}{\sum \text{Populasi yang beresiko}} \times 1000$$

2. Data karakteristik jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan, jenis pertanian, masa kerja dan jenis pestisida yang digunakan, pengalaman latihan penggunaan pestisida serta gambaran kadar kolinesterase dianalisis secara univariat. disajikan melalui tabel distribusi frekuensi.