

## **BAB IV METODE PENELITIAN**

### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian deskriptif kuantitatif dengan pendekatan observasional dengan teknik wawancara serta uji laboratorium untuk mengetahui kadar karboksihemoglobin (COHb) pada darah Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari.

### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

#### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 2 tahap, yaitu:

- a. Lokasi pengambilan sampel darah vena operator di Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari.
- b. Lokasi penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo.

#### 2. Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada tanggal 04 Juni - 09 Juli 2024.

### **C. Populasi dan Sampel**

#### 1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) yang bekerja di SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari. Jumlah Operator SPBU PT.H.Muh.Batarai adalah sebanyak 12 Operator.

#### 2. Sampel

Sampel dalam penelitian adalah sampel darah vena pada Operator SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari yang diambil secara keseluruhan yakni sebanyak 12 sampel. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *total sampling*.

#### D. Prosedur Pengumpulan Data

Prosedur pengumpulan data dimulai dari observasi awal, wawancara, pengumpulan jurnal atau *study literatur* yang mendukung penelitian hingga data dikumpulkan melalui pemeriksaan laboratorium.

#### E. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Lembar persetujuan (*Informed consent*)
2. Lembar kuesioner penelitian
3. Buku tulis dan pulpen sebagai alat tulis
4. *Handphone* sebagai alat dokumentasi

#### F. Prosedur Penelitian

##### 1. Pra Analitik

##### a. Metode Pemeriksaan dan Prinsipnya

Metode yang digunakan adalah metode kuantitatif dengan menggunakan metode pemeriksaan spektrofotometri UV-Vis. Prinsipnya yaitu penyinaran sinar ultraviolet atau cahaya tampak akan melalui sampel dan mengukur jumlah cahaya yang diserap dengan panjang gelombang 546 nm.

##### b. Persiapan Alat dan Bahan

##### 1) Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu spuit (3 ml), tourniquet, tabung vacutainer K<sub>3</sub>EDTA, pipet ukur (5 ml), mikropipet (10 µl - 100 µl), *yellow tip*, neraca analitik, spatula, erlenmeyer, *cool box*, kapas, *yellow tip*, beaker glass, gelas ukur, *pushball*, tabung reaksi (5 ml), rak tabung, parafilm, kuvet, spektrofotometer UV-Vis.

##### 2) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu sampel darah, kapas medis, alkohol swab 70%, plester, aluminium foil, aquades, ammonia 0,1%, *sodium dithionite* (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)

c. Persiapan Responden

- a) Tidak memerlukan persiapan khusus.
- b) Menulis identitas responden.
- c) Menjelaskan kepada responden terkait tujuan dan tindakan dalam penelitian.
- d) Memintai persetujuan responden (*informed consent*) sebelum melakukan pemeriksaan.

d. Persiapan Sampel

Pengambilan darah vena:

- 1) Gunakan alat perlindungan diri (masker dan handscoon)
- 2) Pasang tourniquet pada lengan kira-kira 3 jari di atas lipatan siku dan responden diminta mengepalkan tangan
- 3) Bersihkan daerah vena fossa cubiti dengan alkohol 70% dan biarkan sampai kering
- 4) Lakukan penusukan pada daerah sudah dibersihkan tadi dengan jarum spuit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena
- 5) Lepaskan atau renggangkan tourniquet dan perlahan tarik pengisap spuit hingga spuit terisi darah 2-3 cc
- 6) Lepaskan tourniquet jika masih terpasang. Letakkan kapas di atas jarum, kemudian keluarkan jarum spuit dengan menariknya secara perlahan
- 7) Tekan tempat tusukan dengan kapas selama beberapa saat dan tutup menggunakan plester
- 8) Masukkan darah tersebut ke dalam tabung vacutainer K<sub>3</sub>EDTA
- 9) Homogenkan sampel dengan cara membolak-balik tabung sampel secara vertikal
- 10) Diberi label pada tabung tersebut (kode sampel)
- 11) Kemudian tabung yang berisi sampel darah dimasukkan ke dalam *cool box* kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengukuran kadar karboksihemoglobin (COHb).

e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

- 1) Pipet larutan ammonia 0,1% sebanyak 20 ml dengan menggunakan pipet ukur, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer.
- 2) Tambahkan 10  $\mu$ l *whole blood* dengan menggunakan mikropipet dan *yellow tip*, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi ammonia 0,1%. Campur dan homogenkan larutannya.
- 3) Pipet 4 ml campuran ammonia 0,1% dan *whole blood* menggunakan pipet ukur lalu masukkan ke dalam tabung reaksi 5 ml
- 4) Tambahkan 20 mg *sodium dithionite*, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi. Tutup tabung dengan parafilm lalu homogenkan.
- 5) Kemudian baca absorbansi larutan pada rentang panjang gelombang ( $\lambda$ ) 400-700 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum ditentukan berdasarkan puncak absorbansi tertinggi yang terlihat pada kurva absorbansi yang ditampilkan.

f. Penentuan *Operating Time*

- 1) Pipet 20 ml larutan ammonia 0,1% dengan menggunakan pipet ukur, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer.
- 2) Tambahkan 10  $\mu$ l *whole blood* dengan menggunakan mikropipet dan *yellow tip*, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi ammonia 0,1%. Campur dan homogenkan larutan tersebut.
- 3) Pipet 4 ml campuran ammonia 0,1% dan *whole blood* menggunakan pipet ukur lalu masukkan ke dalam tabung reaksi 5 ml.
- 4) Tambahkan *sodium dithionite* sebanyak 20 mg, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi. Tutup tabung dengan parafilm lalu homogenkan.
- 5) Kemudian larutan uji tersebut diukur pada detik ke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan seterusnya sampai diperoleh kurva yang stabil/konstan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

2. Analitik

- 1) Siapkan 2 tabung reaksi berukuran 5 ml, dan masing-masing diberi label R1 (Reagen) dan SPL (Reagen sampel).

- 2) Siapkan larutan ammonia 0,1% sebanyak 20 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer.
- 3) Pipet sampel *whole blood* sebanyak 10 µl dengan menggunakan *yellow tip*, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan ammonia 0,1%, dan homogenkan campurannya.
- 4) Masukkan campuran tersebut sebanyak 4 mL ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berlabel R1 dan SPL
- 5) Pada tabung berlabel SPL ditambahkan *sodium dithionite* ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) sebanyak 20 mg yang sebelumnya telah ditimbang menggunakan neraca analitik. Campur sampai homogen dan inkubasi selama 8 menit.
- 6) Setelah diinkubasi, masukkan sampel dari tabung reaksi SPL dan R1 ke dalam masing-masing kuvet dengan hati-hati. Pastikan tidak ada gelembung udara di dalam kuvet.
- 7) Masukkan kuvet RI dan SPL ke dalam spektrofotometer UV-Vis dan baca absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 546 nm.
- 8) Absorbansi R1 disebut ( $\Delta A$ ) dan absorbansi standar SPL disebut ( $\Delta a_{rHb}$ ).
- 9) Hasil dihitung menggunakan rumus perhitungan seperti di bawah ini:

$$\text{COHb} = \frac{\Delta A}{\Delta a_{rHb}} \times 6,08\%$$

Keterangan :

COHb : Kadar karboksihemoglobin

$\Delta A$  : Absorbansi reagen

$\Delta a_{rHb}$  : Absorbansi standar sampel

6,08% : Faktor konversi persen saturasi CO didalam Hb

### 3. Pasca analitik

Interpretasi hasil pemeriksaan kadar karboksihemoglobin (COHb) menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 70 tahun 2016 yaitu:

- 1) Di bawah ambang batas :  $< 3,5\%$
- 2) Melebihi ambang batas :  $\geq 3,5\%$

## **G. Jenis Data**

### **1. Data Primer**

Data primer adalah data yang diperoleh langsung dari pengambilan darah di Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari. Data lainya diperoleh dari pemeriksaan sampel darah di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo.

### **2. Data Sekunder**

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya, seperti jurnal, karya tulis ilmiah, skripsi, literatur, dan dari buku-buku yang digunakan sebagai acuan dalam penyusunan proposal ini.

## **H. Pengolahan Data**

Dalam penelitian yang akan dilakukan, ada beberapa tahapan dalam pengolahan data, yaitu:

1. Pemeriksaan data (*editing*) bertujuan mengkaji dan meneliti data Operator SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari yang telah diperoleh untuk pemeriksaan kadar karboksihemoglobin dalam darah.
2. Pengkodean data (*coding*) bertujuan untuk memberikan kode pada setiap data sampel darah Operator SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari yang telah terkumpul disetiap instrumen penelitian sehingga dapat memudahkan dalam menganalisa data.
3. Pengelompokkan data (*tabulating*) yaitu memasukkan data hasil pemeriksaan kadar karboksihemoglobin dalam darah Operator SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari yang telah dikelompokkan ke dalam tabel agar mudah dipahami dan diuraikan.

## **I. Analisis Data**

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu deskriptif kuantitatif dengan melihat kadar karboksihemoglobin (COHb) pada sampel darah Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) PT.H.Muh.Batarai. Data-data yang diperoleh dideskripsikan kemudian diolah untuk menjawab rumusan masalah yang ada.

## J. Penyajian Data

Penyajian data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu data hasil penelitian yang telah dilakukan kemudian diolah dan dideskripsikan secara jelas dalam bentuk tabel.

## K. Etika Penelitian

Etika penelitian diterapkan untuk melindungi hak-hak subjek penelitian dengan menerapkan etika penelitian yaitu :

### 1. Tanpa Nama (*Anonymity*)

Tidak mencantumkan identitas subjek penelitian yaitu identitas/nama operator SPBU PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari, melainkan hanya menggunakan kode pada lembar pengumpulan data.

### 2. Persetujuan (*Informed consent*)

Lembar persetujuan yang diberikan kepada subjek penelitian yaitu lembar persetujuan untuk penelitian yang berjudul “Gambaran Paparan Karbon Monoksida (CO) dari Emisi Kendaraan Terhadap Kadar Karboksihemoglobin dalam Darah pada Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari”, untuk ikut terlibat sebagai subjek penelitian dan bersedia diambil darah venanya untuk pemeriksaan kadar COHb. Jika subjek menolak, maka peneliti tidak akan memaksa dan tetap menghormati hak-hak subjek penelitian.

### 3. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

Menjamin kerahasiaan dari hasil penelitian yang dapat menyebabkan masalah bagi peneliti dan subjek penelitian. Pada penelitian “Gambaran Paparan Karbon Monoksida (CO) dari Emisi Kendaraan terhadap Kadar Karboksihemoglobin dalam Darah pada Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum PT.H.Muh.Batarai Kota Kendari”, peneliti menjamin kerahasiaan data hasil pemeriksaan kadar karboksihemoglobin Operator SPBU yang diperoleh, hanya akan digunakan untuk pemberian laporan hasil penelitian tersebut.