

BAB III

METODE PENELITIAN

A. JENIS DAN DESAIN PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimental dengan *pretest posttest group design*.

B. WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN

Penelitian akan dilakukan di daerah endemik GAKI Purwoharjo, Samigaluh, Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta pada bulan Juli-September 2016.

C. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah penduduk daerah endemik GAKI Samigaluh Kulon Progo Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah anak sekolah dasar usia 6-12 tahun SD di daerah endemik GAKI Samigaluh Kulon Progo Yogyakarta yang menyetujui untuk dilakukannya program ini. Pemilihan sampel tidak dilakukan secara

acak menggunakan *non probability sampling* dengan metode *purposive sampling*.

Besarnya sampel yang dipakai dalam penelitian analitik numerik berpasangan dapat dihitung dengan rumus (Dahlan, 2010):

$$n_1 = n_2 = \left\{ \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{x_1 - x_2} \right\}^2$$

Keterangan:

n_1, n_2 : Besar sampel minimal

$Z\alpha$: Deviat Baku alpha (Kesalahan tipe I) = 5% = 1,96

$Z\beta$: Deviat Baku beta (Kesalahan tipe II) = 20% = 0,84

S : simpang baku dari selisih nilai antar kelompok

$x_1 - x_2$: selisih minimal rerata yang dianggap bermakna (berasal dari penelitian (Drouin *et al.*, 2006) = $0,11 \times 10^6$)

Sehingga perhitungannya:

$$n_1 = n_2 = \left\{ \frac{(1,96 + 0,84)0,22 \times 10^6}{0,11 \times 10^6} \right\}^2$$

$$n_1 = n_2 = \left\{ \frac{2,8 \times 0,22}{0,11} \right\}^2$$

$$n_1 = n_2 = 31,36 = 32$$

Dengan demikian, besar sampel minimal masing-masing kelompok adalah 32 responden anak di daerah endemik GAKI Samigaluh Kulon Progo Yogyakarta.

Pada penelitian ini didapatkan 32 sampel untuk kelompok intervensi yang merupakan siswa SD Negeri Tukharjo dan 17 sampel untuk kelompok

kontrol yang merupakan siswa SD Negeri Purwoharjo. Besarnya jumlah sampel kelompok kontrol sama dengan penelitian yang dilakukan Shapoorabadi *et al.* (2016).

3. Kriteria inklusi

- a. Subjek merupakan anak yang lahir dan tinggal di daerah endemik sejak lahir.
- b. Subjek berumur 6-12 tahun.
- c. Subjek bersedia menjadi responden untuk mengikuti penelitian

4. Kriteria eksklusi

- a. Subjek mengalami kelainan kongenital selain hipotiroid dan atau mengalami sakit kronis yang dapat menyebabkan anemia.
- b. Subjek sedang mengalami perdarahan berat.
- c. Subjek menstruasi saat pengambilan sampel.
- d. Pendatang

D. VARIABEL DAN DEFINISI OPERASIONAL

1. Variabel

- a. Variabel bebas : olahraga
- b. Variabel terikat : jumlah eritrosit, kadar hemoglobin

2. Definisi Operasional

- a. Intervensi olahraga yang diberikan merupakan aktivitas fisik yang melibatkan pergerakan otot-otot mayor selama 20-30 menit sebanyak lima kali per minggu dalam enam minggu sesuai penelitian yang dilakukan Farzanegi *et al.* (2014) dengan modifikasi. Olahraga yang diberikan berupa senam dan permainan-permainan, seperti sepak bola, lempar-tangkap, benteng, estafet, kasti, dan lain sebagainya supaya bervariasi dan responden antusias. Intervensi ini dilakukan kepada siswa SD Tukharjo di Samigaluh, Kulon Progo, Yogyakarta. Skala pengukuran berupa skala nominal, yaitu melakukan dan tidak melakukan olahraga.
- b. Jumlah eritrosit adalah jumlah sel darah merah tiap mikroliter darah didapat dari anak SD di daerah endemik GAKI. Jumlah eritrosit dihitung menggunakan metode Hayem Turk dan memiliki satuan $n \times 10^6$ sel/ μ L. Spesimen yang digunakan adalah darah vena diambil dari vena cubiti siswa SD di Samigaluh, Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Volume darah yang digunakan sebanyak 20 μ L. Jumlah eritrosit dihitung dengan bantuan jasa laboratorium PKU Muhammadiyah Gamping. Skala pengukuran jumlah eritrosit ialah skala pengukuran interval menggunakan nilai acuan sesuai tingkat normalitas jumlah eritrosit yang telah ditentukan.
- c. Kadar hemoglobin adalah jumlah molekul hemoglobin dalam gram tiap desiliter volume darah didapat dari anak SD di daerah endemik GAKI.

Kadar hemoglobin dihitung menggunakan metode sianmethemoglobin dan memiliki satuan g/dL. Spesimen yang digunakan adalah darah vena diambil dari vena cubiti siswa SD di Samigaluh, Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Volume darah yang digunakan sebanyak 20 μ L. Kadar hemoglobin dihitung dengan bantuan jasa laboratorium PKU Muhammadiyah Gamping. Skala pengukuran kadar hemoglobin ialah skala pengukuran interval menggunakan nilai acuan sesuai tingkat normalitas kadar hemoglobin yang telah ditentukan.

3. Instrumen Penelitian

Pada penelitian ini digunakan beberapa instrument, yaitu:

- a. *Informed consent* untuk bukti kesediaan menjadi responden.
- b. *Form* data berisi data identitas responden dan parameter yang akan diukur.
- c. Alat dan bahan pengambilan sampel darah serta penampungan sampel.
- d. Alat pengukur jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin

E. CARA PENGUMPULAN DATA

1. Tahapan Penelitian

- a. *Ethical clearence* diperoleh dari KEPK FKIK UMY dengan nomor surat 406/EP-FKIK-UMY/XI/2016 dan perijinan pihak terkait (PEMDA dan sekolah)
- b. Persiapan alat dan bahan

- c. Sosialisasi program sekolah dan penyusunan kegiatan
- d. Pengisian *informed consent* oleh orang tua atau wali
- e. Pengukuran jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dilakukan di Laboratorium PKU Muhammadiyah Gamping (*pretest*)
- f. Pelaksanaan program olahraga setiap pagi saat jam istirahat sekolah 20-30 menit seminggu 5 kali selama 6 minggu.
- g. Pengukuran jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dilakukan di Laboratorium PKU Muhammadiyah Gamping (*posttest*).
- h. Rekapitulasi data
- i. Pengujian statistik

2. Metode Pengambilan Darah

a. Jumlah Eritrosit

1) Prinsip:

Darah diencerkan lalu dihitung jumlah eritrosit dalam volume tertentu dengan mengalikan terhadap faktor perhitungan sehingga diperoleh jumlah eritrosit dalam satuan volume darah. Pengenceran darah dengan Hayem menyebabkan lisisnya sel selain eritrosit dan trombosit, sehingga memudahkan perhitungan sel eritrosit, darah diencerkan 201x dan sel eritrosit dihitung pada lima bidang kecil.

2) Bahan: Darah vena

3) Alat:

a) Mikroskop

- b) Bilik hitung
 - c) *Deck Glass*
 - d) Transferpet 4 ml, dan 20 mikroliter
 - e) Tabung
- 4) Reagensia: Larutan Hayem
- 5) Cara Kerja:
- a) Bilik hitung dan deck glass disiapkan dalam keadaan bersih.
 - b) Masukkan 4 ml reagen Hayem dalam tabung.
 - c) Ditambahkkan 20 mikroliter darah ke dalam tabung berisi larutan Hayem.
 - d) Tabung digojok agar larutan Hayem benar-benar melisiskan sel-sel selain eritrosit dan trombosit.
 - e) Bilik hitung dengan kaca penutupnya diletakkan di atas bidang yang datar.
 - f) Larutan campuran (darah+Hayem) dipipet dengan pipet pasteur kemudian ujung pipet disentuhkan dengan sudut 30^0 pada permukaan bilik hitung dengan menyinggung kaca penutup. Biarkan bilik hitung terisi perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.
 - g) Biarkan bilik hitung tersebut selama 2-3 menit supaya eritrosit dapat mengendap.
 - h) Sel-sel eritrosit yang terdapat pada lima petak kecil (bagian tengah bilik hitung) menggunakan mikroskop perbesaran 40X.

6) Interpretasi hasil

Nilai normal jumlah eritrosit pada anak usia 6-12 tahun laki-laki adalah $4,1-5,6 \times 10^6/\mu\text{L}$ dan perempuan adalah $3,9-5,2 \times 10^6/\mu\text{L}$ (NHANES, 2004).

b. Kadar Hemoglobin

1) Prinsip

Heme (ferro) dioksidasi oleh kalium ferrisianida menjadi (ferri) methemoglobin yang kemudian bereaksi dengan ion sianida membentuk sianmethemoglobin yang berwarna coklat, absorban diukur dengan spektrofotometer pada $\lambda 540$ nm atau fotometer pada $\lambda 546$ (Randox, 2008).

2) Bahan dan Alat

- a) Sampel darah
- b) Tabung reaksi
- c) Larutan Drabkins
- d) Pipet 5 mL
- e) Fotometer

3) Prosedur

- a) Ambil larutan Drabkins menggunakan pipet 5 mL kedalam tabung reaksi.
- b) Tambah 20 μL sampel darah EDTA, campur, inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit.

- c) Masukkan larutan Drabkin (blanko) kedalam kuvet, posisikan penunjuk fotometer pada angka nol dengan λ 546 nm.
- d) Larutan sampel yang sudah diinkubasi dimasukkan ke dalam kuvet ukur absorban dengan fotometer pada λ 546 nm.
- e) Perhitungan kadar hemoglobin dengan cara mengkalikan absorban sampel dengan 36,77 g/dL (Randox, 2008).

4) Interpretasi

Nilai normal kadar hemoglobin pada anak usia 5-11 tahun adalah $\geq 11,5$ g/dL dan anak usia 12-14 tahun adalah $\geq 12,0$ g/dL (WHO, 2011).

F. ANALISIS DATA

Data yang dianalisis pada penelitian ini adalah jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin sebelum dan sesudah dilakukan program olahraga dengan skala pengukuran interval. Sebelum dilakukan uji statistik, data diuji normalitas menggunakan Saphiro-wilk. Perbedaan kadar hemoglobin kelompok intervensi sebelum dan sesudah perlakuan diuji menggunakan uji statistik *Paired Samples T-Test* karena data berdistribusi normal. Perbedaan jumlah eritrosit sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok intervensi maupun kelompok kontrol serta perbedaan kadar hemoglobin kelompok intervensi sebelum dan sesudah perlakuan diuji menggunakan uji statistik Wilcoxon karena data tidak berdistribusi normal. Selanjutnya hubungan peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin diuji

menggunakan *product moment Pearson*, yaitu uji korelasi Spearman karena data tidak berdistribusi normal.