

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode analitik observasional dan data yang diambil secara cross sectional untuk mengetahui hubungan antara kadar tyroxin (T4) dengan perkembangan bahasa dan personal anak usia bawah 2 tahun di daerah endemik GAKY, Desa Ngargosoka, Kecamatan Srumbung, Kabupaten Magelang.

B. Populasi Dan Sampel Penelitian

1. Populasi target yaitu anak yang berusia bawah 2 tahun
2. Populasi terjangkau yaitu anak yang berusia bawah 2 tahun di Desa Ngargosoka, Kecamatan Srumbung, Kabupaten Magelang
3. Sampel penelitian adalah bayi yang masuk kriteria inklusi Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *nonprobability sampling* dengan *purposive sampling*. Peneliti menggunakan kuesioner untuk memperoleh informasi tentang identitas, nutrisi, informasi klinik, indeks hipotiroid dan status kesehatan.

Besarnya sampel yang dipakai dalam penelitian analitik korelatif dapat dihitung dengan rumus (Dahlan, 2006)

$$N = \left\{ \frac{z\alpha + z\beta}{0,51n/(1+r)/1-r} \right\}^2 + 3$$

Keterangan:

N : 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

r : Nilai kolerasi (berasal dari penelitian sebelumnya) = 0,46

Jadi perhitungannya :

$$N = \left\{ \frac{1,96 + 0,84}{0,5 \ln \left[\frac{1 + 0,46}{1 - 0,46} \right]} \right\}^2 + 3$$

$$N = \left\{ \frac{2,8}{0,5 \times 0,995} \right\}^2 + 3$$

$$N = 34,67$$

Karena keterbatasan berbagai hal, maka akan digunakan sampel sebanyak 43 responden.

4. Kriteria inklusi:

- a. Anak usia 1 – 24 bulan
- b. Lahir dan tinggal menetap di daerah endemik GAKY
- c. Mendapat persetujuan dari wali untuk menjadi responden penelitian

5. Kriteria eksklusi

Terdapat kelainan yang diderita karena penyakit infeksi maupun trauma yang dapat mengganggu proses tumbuh kembang

C. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di salah satu daerah endemik GAKY wilayah Magelang yaitu Desa Ngargosoka Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang.

Waktu penelitian pada bulan Maret sampai dengan Juni 2013

D. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi 3 macam yaitu :

1. Variabel bebas adalah kadar Tiroksin Bebas (*free T₄*) darah pada anak usia bawah dua tahun.
2. Variabel tergantung adalah perkembangan bahasa dan personal sosial anak usia bawah dua tahun.
3. Variabel perancu adalah faktor genetik, asupan makanan, lingkungan (prenatal dan postnatal)

E. Definisi Operasional

1. Kadar hormon tiroksin dalam darah adalah banyaknya molekul tiroksin (T_4 bebas) dalam serum. Kadar hormone tiroksin diukur dengan metode ELISA. Skala data ordinal dan dikategorikan menjadi hipotiroid, normo tiroid dan hipertiroid. Dengan catatan kadar normal T_4 bebas adalah 0,8 - 1,8 ng/dl

2. Perkembangan adalah bertambahnya kemampuan dalam struktur dan fungsi tubuh yang kompleks dalam pola yang teratur dan dapat diramalkan, sebagai hasil dari proses pematangan (Soetjiningsih, 2006). Penilaian perkembangan anak dilakukan dengan menggunakan DDST-II (*Denver Development Screening Test II*).

Pada analisis data, hasil tersebut termasuk pengukuran skala ordinal, seperti perkembangan normal, suspek keterlambatan, maupun tidak dapat di tes.

3. Perkembangan bahasa adalah perkembangan bahasa adalah aspek yang berhubungan dengan kemampuan untuk memberikan respon terhadap suara, berbicara, berkomunikasi, mengikuti perintah dan sebagainya. (Depkes, 2010)

4. Perkembangan sosial adalah pencapaian kematangan dalam hubungan sosial. Dapat juga diartikan sebagai proses belajar untuk menyesuaikan diri terhadap norma-norma kelompok, moral, dan tradisi; meleburkan diri menjadi suatu kesatuan dan saling berkomunikasi dan bekerja sama. (Yusuf, 2011)

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Kuesioner dan form data berisi data kriteria responden dan parameter yang akan diukur
2. Informed consent untuk bukti kesediaan menjadi responden
3. Kartu Menuju Sehat responden
4. *Denver Development Screening Test (DDST II)*

5. Indeks hipotiroid

6. Tes Elisa

G. Pengukuran Hormon Tiroksin Bebas Metode Elisa

Prinsip tes berdasar teknik kompetitif ELISA. Plat dilapisi beberapa antibodi anti-T₄ monoklonal (Anti-T₄ mAb) pada teknik ini. Serum pasien yang telah ditentukan dan T₄-HRP konjugat standar ditambahkan ke plat mikrotiter. Selama masa inkubasi, T₄ bebas dan T₄. Konjugasi bersaing untuk mengikat pada plat. Plat dicuci sepenuhnya untuk menghilangkan T₄ bebas yang tidak terikat.

Campuran TMB-substrat kemudian ditambahkan dan diinkubasi, menghasilkan perkembangan warna biru. Perkembangan warna dihentikan dengan menambahkan stop solution, dan absorbansi ditentukan secara spektrofotometrik pada 450 nm. Intensitas warna dibentuk secara proporsional pada jumlah enzim yang ada dan secara inversi terkait dengan jumlah T₄ bebas dalam sampel (Diagnostics, 2009). Prosedur pengukuran T₄ bebas:

1. Alat:

- a. Mikropipet
- b. Tip pipet
- c. Aquabides
- d. Mikrowell plate (sumuran)

f. Stopwatch

2. Bahan:

- a. 96 sumuran yang telah dilapisi antibodi anti-T₄
- b. fT₄ standar: 0; 0,43; 1,05; 2,1; 4,3; dan 7,9 ng/dl (ml/vial)
- c. T₄-Enzyme conjugate : 10,5 ml
- d. Substrate solution A (H₂O₂) : 13 ml
- e. Substrate solution B (TMB) : 13 ml
- f. Stop solution : 10 ml (2N HCl)

3. Prosedur Pengujian:

- a. biarkan semua komponen kit mencapai suhu ruang sebelum digunakan.
Beri identitas setiap sumuran.
- b. Pipet 50 μ l standar, sampel dan kontrol kedalam sumuran yang telah disediakan
- c. kemudian tambahkan 100 μ l enzim kedalam tiap sumuran.
Homogenkan dengan cara mengetuk – ketukkan plate selama 30 detik
- d. Inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit
- e. Cuci sumuran 5 kali dengan menggunakan aquabides, dengan cara membalikkan dengan cepat sumuran dan membilasnya setiap pencucian.
Ketukkan plate diatas tisu selama 2 detik untuk menghilangkan sisa

- f. Tambahkan $100 \mu\text{l}$ Solution A dan $100 \mu\text{l}$ Solution B (atau $200 \mu\text{l}$ TMB solution) kedalam setiap sumuran
- g. Homogen kan dan inkubasi pada suhu ruang selama 20 menit.
- h. Setelah inkubasi selesai, hentikan reaksi dengan menambahkan $50 \mu\text{l}$ stop solution ke dalam setiap sumuran. Homogen kan selama 30 detik
- i. Baca absorbansi pada panjang gelombang pada 450 nm menggunakan ELISA Reader.

4. Interpretasi Hasil

Nilai Normal: 0,8 – 1,8 ng/dl. Sensitifitas tes: mampu mendeteksi fT_4 dengan konsentrasi minimal 0,05 ng/dl

H. Prosedur Pemeriksaan Denver Development Screening Test II

1. Tetapkan kronologis umur anak, tanyakan tanggal lahir anak yang akan diperiksa. Gunakan patokan 30 hari untuk satu bulan dan 12 bulan untuk satu tahun.
2. Jika dalam perhitungan kurang dari 15 hari dibulatkan ke bawah, jika sama dengan atau lebih dari 15 maka di bulatkan ke atas
3. Tarik garis berdasarkan umur kronologis yang memotong garis horisontal tugas perkembangan pada formulir DDST II
4. Hitunglah masing-masing sektor, berapa yang bernialai *Passed* (P) jika lebih dan berapa yang bernialai *Fail* (F) jika sama atau kurang

Opportunity (NO) apabila tidak mendapat kesempatan untuk melakukan tugas.

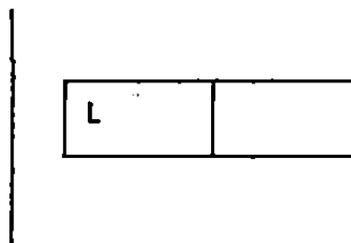
I. Interpretasi DDST II

1. Penilaian individual , meliputi:

a. Penilaian item lebih (*advance*)

Bila anak lulus pada item tes yang terletak di kanan garis umur.

Garis umur



Gambar 2. Penilaian Lebih

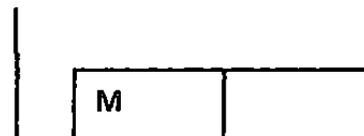
b. Penilaian Item Normal

Bila anak dapat melakukan tes yang diberikan sesuai dengan umurnya.

Garis umur

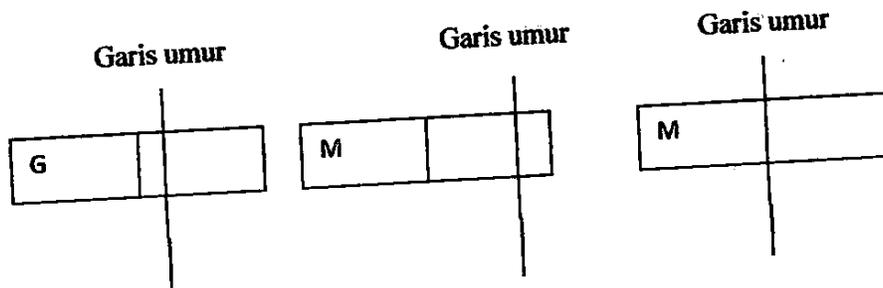


Garis umur



c. Penilaian Peringatan (*caution*)

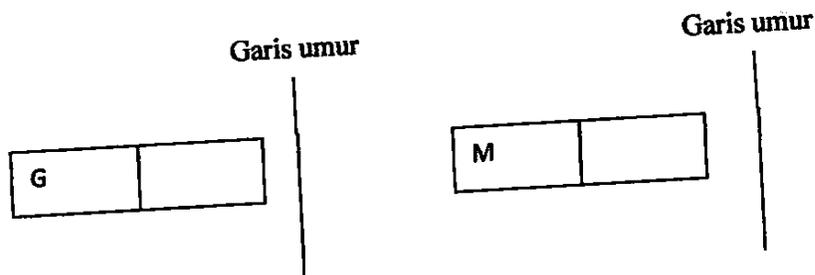
Sebuah peringatan (P) pada item individual perlu diperhatikan saat menginterpretasi tes, bila anak gagal (G) atau menolak (M) melakukan item tes dimana garis umur terletak pada atau antara 75% dan 90% maka diskor dengan P (peringatan).



Gambar 4. Penilaian Peringatan

d. Penilaian Keterlambatan (*Delayed*)

Item diinterpretasikan terlambat (T) bila anak gagal atau menolak melakukan item tes yang terletak jelas berada disebelah kiri garis umur.



Gambar 5. Penilaian Keterlambatan

e. **Penilaian Tidak Ada Kesempatan**

Bila orang tua melaporkan bahwa anak tidak ada kesempatan untuk melakukan atau mencoba item yang telah ada sesuai dengan umur anak.

2. **Kesimpulan Tes Denver II**

- Normal : Tidak ada *delayed* dan paling banyak satu *caution*
- Suspek terlambat : Bila didapatkan ≥ 2 *caution* dan atau ≥ 1 *delayed*
- Untestable : Penolakan pada ≥ 1 tugas perkembangan di sebelah kiri garis umur atau menolak ≥ 1 tugas perkembangan yang ditembus garis umur pada daerah 75% -90%

J. Jalan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan untuk pengumpulan data adalah sebagai berikut :

1. Perizinan dari daerah setempat
2. Survey awal dan sosialisasi penelitian pada pihak-pihak terkait
3. Penjadwalan pengambilan darah anak dan pengukuran data yang diperlukan.
4. Pengisian kuesioner untuk mengetahui kriteria responden
5. Pengambilan data berupa Uji Denver II
6. Pengambilan sampel darah untuk mengetahui kadar FT_4
7. Pengukuran kadar FT_4 darah oleh laboratorium patologi klinik Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

8. Tabulasi dan pengolahan data

9. Pengujian statistik

10. Pembuatan laporan

11. Presentasi

K. Analisis Data

Data diolah dan disajikan dalam bentuk table rerata, distribusi, frekuensi.

4.11.1.1. Analisis dengan menggunakan data skala ordinal ordinal ini