

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode analitik observasional dan data ambil secara *cross sectional* untuk mengetahui hubungan antara kadar tiroksin bebas (fT₄) darah dengan perkembangan motorik bayi usia bawah 2 tahun di daerah endemik GAKY di Desa Ngargosoko, Srumbung, Magelang, Jawa Tengah.

B. POPULASI DAN SAMPEL

1. Populasi target yaitu anak yang berusia bawah 2 tahun
2. Populasi terjangkau yaitu anak yang berusia bawah 2 tahun di Desa ngargosoko, Srumbung, Magelang, Jawa Tengah.
3. Sampel penelitian adalah bayi yang masuk kriteria inklusi Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *nonprobability sampling* dengan *purposive sampling*. Sampel ditemui melalui Posyandu-posyandu. Seluruh responden yang memenuhi kriteria dan bersedia akan direkrut menjadi sampel penelitian, agar tidak terjadi kecemburuan sosial antar anggota masyarakat. Peneliti menggunakan kuesioner untuk memperoleh informasi tentang identitas, nutrisi, informasi klinik dan status kesehatan.

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

$$N = \left\{ \frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln[(1+r)/(1-r)]} \right\}^2 + 3$$

Keterangan:

N : Besar sampel minimal

Z α : Deviat baku alpha (Kesalahan tipe I) = 5% = 1,96

Z β : Deviat baku beta (Kesalahan tipe II) = 20% = 0,84

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

Jadi perhitungannya :

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

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

$$N = 34,67$$

Karena keterbatasan berbagai hal, maka akan digunakan sampel sebanyak 35 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 dilakukan di salah satu daerah endemik GAKY wilayah Magelang yaitu Desa Ngargosoko, Srumbung, Magelang, Jawa Tengah 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 bayi usia bawah 2 tahun.
2. Variabel tergantung adalah perkembangan motorik kasar dan motorik halus bayi usia bawah 2 tahun.
3. Variabel perancu adalah faktor genetik, asupan makanan, lingkungan (prenatal dan postnatal).

E. DEFENISI OPERASIONAL

1. Kadar hormon tiroksin dalam darah adalah banyaknya molekul tiroksin (T₄ bebas) dalam serum. Kadar hormon tiroksin diukur dengan metode ELISA. Skala data Ordinal dan dikategorikan menjadi hipotiroid,

normotiroid, dan hipertiroid. Dengan patokan kadar normal T₄ bebas adalah 0,8 – 1,8 ng/dL (10 – 23 pmol/L).

2. Perkembangan adalah bertambahnya struktur dan fungsi tubuh yang lebih kompleks dalam kemampuan gerak kasar, gerak halus, bicara dan bahasa serta sosialisasi dan kemandirian. Perkembangan motorik kasar adalah aspek yang berhubungan dengan kemampuan anak melakukan pergerakan dan sikap tubuh yang melibatkan otot-otot besar seperti duduk, berdiri dan sebagainya. Perkembangan motorik halus adalah aspek yang berhubungan dengan kemampuan anak melakukan gerakan yang melibatkan bagian-bagian tubuh tertentu dan dilakukan oleh otot-otot kecil, tetapi memerlukan koordinasi yang cermat seperti mengamati sesuatu, menjepit, menulis dan sebagainya (Depkes 2010). 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.

F. INSTRUMEN PENELITIAN

1. Kuesioner dan form data berisi data kriteria responden dan parameter yang akan diukur
2. Informed consent untuk bukti kesediaan menjadi responden
3. *Denver Development Screening Test* (DDST-II)
4. Indeks hipotiroid
5. Metode ELISA

G. TEKNIK PENGUMPULAN DATA

Tahapan penelitian yang dirancang 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, meliputi:
 - a. Pengisian kuesioner untuk mengetahui kriteria responden
 - b. Pengambilan sampel darah untuk mengetahui kadar fT_4
 - c. Penilaian perkembangan anak dengan metode DDST-II (*Denver Development Screening Test II*).
 - d. Pengukuran kadar T_4 bebas dengan pengambilan serum darah dan diukur dengan alat ukur elisa reader yang akan dilakukan oleh laboratorium patalogi klinik Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
4. Tabulasi dan pengolahan data
5. Pengujian statistik
6. Pembuatan laporan
7. Presentasi

H. PENGUKURAN KADAR HORMON TIROKSIN 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)
- e. ELISA Reader dan Washer
- 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 tissue selama 2 detik untuk menghilangkan sisa air bilasan.
- f. Tambahkan 100 μ l Solution A dan 100 μ l Solution B (atau 200 μ 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 μ l stop solution ke dalam setiap sumuran. Homogenkan 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

I. PROSEDUR PEMERIKSAAN DENVER DEVELOPMENT SCREENING TEST II

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

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

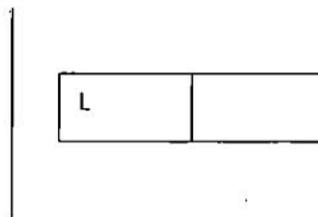
2. Interpretasi DDST II

a. Penilaian individual , meliputi:

1) Penilaian item lebih (*advance*)

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

Garis umur

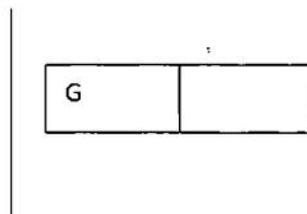


Gambar 2. Penilaian Lebih

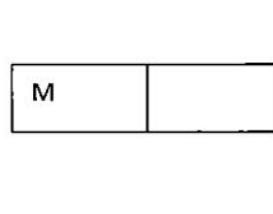
2) Penilaian Item Normal

Bila anak dapat melakukan tes yang diberikan sesuai dnegan umurnya.

Garis umur



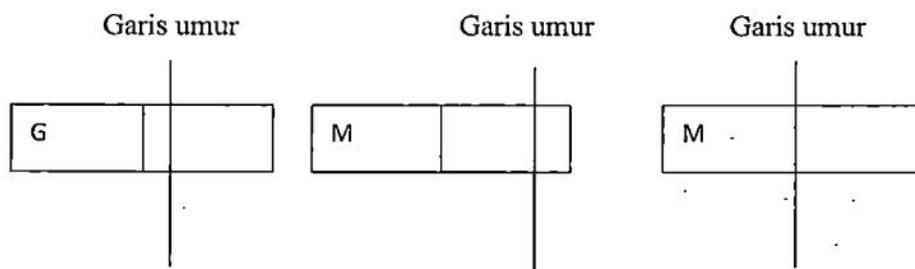
Garis umur



Gambar 3. Penilaian Normal

3) Penilaian Peringatan (*caution*)

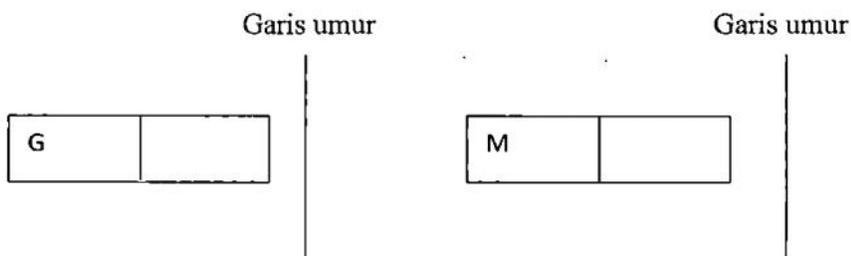
Sebuah peringatan (P) pada item individual perlu diperhatikan saat menginterpretasi tes, bila anak gagal (G) atau menolak (M) melakukan item tes dimana garis umur terletak pada atau antara 75% dan 90% maka diskor dengan P (peringatan).



Gambar 4. Penilaian Peringatan

4) 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

5) 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.

b. Kesimpulan Tes Denver II

Normal : Tidak ada *delayed* dan paling banyak satu atau *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%

Untuk keakuratan data, responden yang tidak mau melakukan karena tidur, ngantuk, belum familiar, akan dicoba dites ulang.

J. VALIDITAS DAN RELIABILITAS

Penelitian ini menggunakan alat-alat ukur yang standar dan sesuai dengan cara pemakaiannya dan telah diuji sebelumnya. Pengukur memiliki persamaan persepsi dalam setiap pengukuran. Pengukuran T₄bebas dilakukan Laboratorium Klinik Asri medical centre (AMC) dengan metode ELISA. Penilaian perkembangan menggunakan DDST II (*Denver Development Screening Test II*).

K. ANALISIS DATA

Data akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel rerata, distribusi, frekuensi. Analisa data dilakukan dengan menggunakan data data ordinal ordinal uji korelasi Spearman.