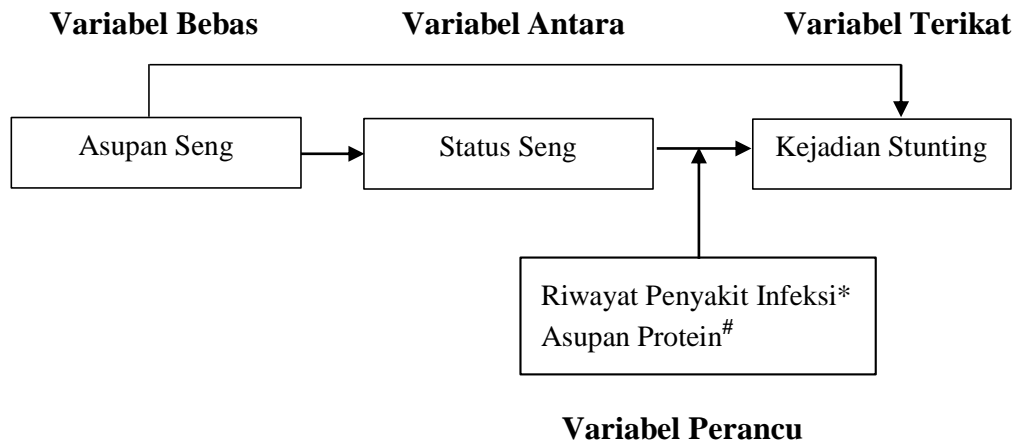


BAB III

METODE PENELITIAN

A. Kerangka Konsep



Keterangan:

* Variabel dikendalikan dengan kriteria inklusi

Variabel diteliti hubungannya dengan kejadian stunting

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

B. Hipotesis Penelitian

1. H_0 : Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara asupan seng dengan status seng pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
 H_a : Terdapat hubungan yang signifikan antara asupan seng dengan status seng pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
2. H_0 : Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara asupan seng dengan kejadian stunting pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.

- Ha : Terdapat hubungan yang signifikan antara asupan seng dengan kejadian stunting pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
3. Ho : Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara status seng dengan kejadian stunting pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
- Ha : Terdapat hubungan yang signifikan antara status seng dengan kejadian stunting pada balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.

C. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah asupan seng.

b. Variabel Antara

Variabel antara dalam penelitian ini adalah status seng.

c. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kejadian stunting.

d. Variabel Perancu (*Confounding*)

Variabel *confounding* dalam penelitian ini adalah

- 1) Penyakit infeksi (diare, ISPA, TBC) yang dikendalikan dengan kriteria inklusi.
- 2) Asupan protein yang diteliti hubungannya dengan kejadian stunting.

2. Definisi Operasional

Tabel 3.1
Daftar Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Kategori	Skala Ukur
Asupan Protein	Jumlah protein yang dikonsumsi untuk memenuhi kebutuhan harian yang dibandingkan dengan AKG.	Wawancara	<i>Semi Quantitative Food Frequency Questionnaire (SQ-FFQ)</i>	a. 0 = asupan kurang, jika: - Usia 24-36 bulan, asupan <16 g. - Usia 37-59 bulan, asupan <20 g. b. 1 = asupan cukup, jika: - Usia 24-36 bulan, asupan ≥ 16 g. - Usia 37-59 bulan, asupan ≥ 20 g. (Rejeki dan Panunggal, 2016)	Nominal
Asupan Seng	Jumlah seng yang dikonsumsi untuk memenuhi kebutuhan harian yang dibandingkan dengan AKG.	Wawancara	<i>Semi Quantitative Food Frequency Questionnaire (SQ-FFQ)</i>	a. 0 = asupan kurang, jika: - Usia 24-36 bulan, asupan <3,2 mg. - Usia 37-59 bulan, asupan <4 mg. b. 1 = asupan cukup, jika:	Nominal

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Kategori	Skala Ukur
				- Usia 24-36 bulan, asupan $\geq 3,2$ mg. - Usia 37-59 bulan, asupan ≥ 4 mg. (Rejeki dan Panunggal, 2016)	
Status seng	Hasil pengukuran kadar serum seng darah yang diambil melalui pembuluh darah vena subjek.	Mengukur kadar serum seng dengan mengambil spesimen darah pada pembuluh darah vena cubiti sebanyak 6 ml.	ICP-MS (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)	a. 0 = Defisiensi, jika kadar Zn < 70 $\mu\text{g/dl}$. b. 1 = Normal, jika kadar ≥ 70 $\mu\text{g/dl}$. (Gibson <i>et al.</i> , 2008).	Nominal
Kejadian Stunting	Status gizi yang ditandai dengan nilai z-score tinggi badan menurut usia (TB/U) kurang dari -2SD.	Pengukuran tinggi badan	Stadio meter	a. 0 = stunting jika nilai z-score $< -2\text{SD}$. b. 1 = non-stunting jika nilai z-score $\geq 2\text{SD}$. (Pramono <i>et al.</i> , 2016)	Nominal

D. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian observasi dengan pendekatan *cross sectional*. Desain *cross sectional* merupakan pengambilan data dilakukan satu kali dalam satu waktu yang telah ditentukan.

E. Populasi Dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua balita di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya. Populasi dalam penelitian ini adalah 828 balita.

2. Sampel Penelitian

a. Metode Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan cara *proportional random sampling* untuk memilih balita yang memenuhi kriteria inklusi.

1) Kriteria inklusi

- a) Responden adalah ibu yang memiliki balita dan merawat sendiri balitanya.
- b) Subjek adalah balita usia 24-59 bulan.
- c) Subjek dan responden bertempat tinggal di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
- d) Balita tidak mengalami penyakit infeksi seperti diare, ISPA, TBC serta tidak memiliki riwayat penyakit kronis bawaan lainnya pada saat pengambilan data.

2) Kriteria eksklusi

- a) Tidak bersedia menjadi responden penelitian/mengundurkan diri.
- b) Pindah domisili saat penelitian berlangsung.

b. Perhitungan Sampel

Perhitungan jumlah sampel dihitung menggunakan rumus (Lwanga Lemeshow, 1997).

$$n = \frac{\left(Z_{1 - \frac{\alpha}{2}}\right)^2 \cdot p \cdot q \cdot N}{d^2(N - 1) + \left(Z_{1 - \frac{\alpha}{2}}\right)^2 \cdot P \cdot q}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 0,29 \cdot 0,71 \cdot 828}{(0,1)^2(828 - 1) + (1,96)^2 \cdot 0,29 \cdot 0,71}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 0,29 \cdot 0,71 \cdot 828}{(0,01) (827) + (1,96)^2 \cdot 0,29 \cdot 0,71}$$

$$n = 72,2 \approx 73 \text{ sampel}$$

Keterangan :

$Z_{1 - \frac{\alpha}{2}}$	=	Nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada tingkat kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$
p	=	Proporsi populasi yang menderita stunting 29,35%
q	=	1-p
N	=	Besar populasi
d^2	=	Derajat presisi mutlak (10%)
n	=	Jumlah sampel

Berdasarkan perhitungan, didapat jumlah sampel minimal sebanyak 73 sampel. Jumlah sampel kemudian ditambah 10% dari jumlah sebelumnya sebagai upayaantisipasi *non response bias* sehingga jumlah sampel yang digunakan menjadi 81 sampel.

c. Cara Penentuan Sampel

Penentuan sampel diambil secara proporsional (*proportional random sampling*) dari 12 posyandu yang terdapat di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya. Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah sampel masing-masing posyandu sebagai berikut (Arikunto, 2010):

$$ni = \frac{Ni}{N} \times n$$

Keterangan:

- ni = Jumlah sampel balita usia 24-59 bulan di setiap posyandu
- Ni = Jumlah populasi balita usia 24-59 bulan di setiap posyandu
- N = Jumlah populasi balita usia 24-59 bulan di Kelurahan Karanganyar
- n = Jumlah sampel penelitian

Berikut penentuan jumlah sampel pada setiap posyandu yang disajikan dalam tabel 3.2.

Tabel 3.2
Penentuan Jumlah Sampel Setiap Posyandu

No	Nama Posyandu	Populasi	Proporsi Sebaran	Jumlah Sampel
1.	Teratai	78	$\frac{78}{828} \times 81$	8
2.	Melati	41	$\frac{41}{828} \times 81$	4
3.	Aster	76	$\frac{76}{828} \times 81$	7
4.	Puspita	68	$\frac{68}{828} \times 81$	7
5.	Anggrek	73	$\frac{73}{828} \times 81$	7
6.	Mawar	64	$\frac{64}{828} \times 81$	6
7.	Tulip	67	$\frac{67}{828} \times 81$	7
8.	Kemuning	76	$\frac{76}{828} \times 81$	7
9.	Cempaka	103	$\frac{103}{828} \times 81$	10

No	Nama Posyandu	Populasi	Proporsi Sebaran	Jumlah Sampel
10.	Sakura	61	$\frac{61}{828} \times 81$	6
11.	Dahlia	66	$\frac{66}{828} \times 81$	7
12.	Anyelir	55	$\frac{55}{828} \times 81$	5
Total		828		81

F. Instrumen Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan oleh peneliti yang dibantu oleh beberapa mahasiswa Prodi Gizi Universitas Siliwangi Angkatan 2019, kader posyandu, dan tenaga medis Laboratorium Prodia. Mahasiswa membantu dalam kegiatan wawancara dan pengukuran tinggi badan. Kader posyandu membantu dalam kegiatan pengukuran tinggi badan. Tenaga medis Laboratorium Prodia membantu dalam proses pengambilan serum darah dan analisis konsentrasi serum seng darah.

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Kuesioner penjarangan subjek penelitian.
2. Kuesioner karakteristik subjek dan responden.
3. Stadiometer dengan kapasitas pengukuran hingga 200 cm dan akurasi 0,1 cm.
4. Form *Semi Quantitative Food Frequency Questionnaire* (SQ-FFQ).
5. Buku Foto Makanan (Porsimetri) dan Tabel Komposisi Bahan Pangan.
6. Alat-alat untuk pengambilan sampel darah vena yaitu spuit, jarum, tabung *vacutainer*, *tourniquet*, *holder*, dan kapas alkohol.
7. Alat dan bahan yang digunakan untuk menganalisis konsentrasi seng dalam serum darah dengan metode ICP-MS.

Alat yang digunakan dalam analisis sampel diantaranya ICP-MS (Agilent 7700X), tabung ICP berkapasitas 6 ml, tabung darah dengan tutup berwarna biru tua, botol kaca, *fume hood*, mikropipet dengan kapasitas 200 μ L dan 10 mL, pipet AutoRep E, labu ukur dengan kapasitas 100 ml dan 1000 mL, pengaduk, neraca analitik (Ohaus PA214), rak tabung, sonikator, mikrotube vortex, dan *centrifuge* (Bilqis *et al.*, 2022).

Bahan digunakan dalam analisis sampel meliputi sampel serum, n-Butanol, larutan standar ICP multi-element IV dengan konsentrasi 10 mg/l, *serum control lyophilised*, *ultra-pure water*, alkohol 70%, HNO₃ 2%, HNO₃ 6%, padatan EDTA, standar seng dengan konsentrasi 1000 mg/L, dan gas argon.

G. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Membuat surat permohonan data dan izin survei awal ke Dinas Kesehatan Kabupaten Tasikmalaya, dan Puskesmas Karanganyar.
- b. Melakukan pendataan jumlah balita usia 24-59 bulan yang tinggal di Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya.
- c. Mengajukan permohonan etik kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Mataram setelah proposal disetujui dosen pembimbing dan dosen penguji. Nomor persetujuan etik penelitian ini adalah LB.01.03/6/368/2023.
- d. Mengajukan surat izin penelitian ke Dinas Kesehatan Kota Tasikmalaya, Puskesmas Karanganyar, dan Kelurahan Karanganyar.

2. Tahap Awal

- a. Melaksanakan survei awal ke Dinas Kesehatan Kota Tasikmalaya,
- b. Melaksanakan survei awal ke Puskesmas Karanganyar, Kecamatan Kawalu, Kota Tasikmalaya untuk mendapatkan data balita.
- c. Mengambil data mengenai jenis-jenis bahan makanan yang biasa dikonsumsi responden untuk pembuatan form SQ-FFQ melalui survei pasar dan *food recall*.

3. Tahap Pelaksanaan

- a. Penjaringan Subjek Penelitian (*Screening*)
 - 1) Penjaringan subjek dilakukan dengan mengumpulkan seluruh ibu balita di Kelurahan Karanganyar dalam satu tempat atau bertepatan dengan jadwal posyandu di masing-masing wilayah.
 - 2) Menjelaskan prosedur sebelum penelitian (PSP) kepada responden sebelum penentuan sampel dan selanjutnya dilakukan wawancara dengan kuesioner untuk menentukan apakah subjek memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian ini.
- b. Penentuan Sampel
 - 1) Jika subjek didapatkan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, responden diminta untuk mengisi lembar *informed consent*.
 - 2) Responden memiliki hak kebebasan untuk memilih ikut berpartisipasi atau menolak berpartisipasi dalam penelitian.
 - 3) Responden menyatakan persetujuan dengan menandatangani *informed consent*, sehingga pengambilan data dapat dilakukan.

c. Pengambilan Data Penelitian

1) Karakteristik subjek dan responden diambil melalui wawancara menggunakan kuesioner.

2) Pengukuran Tinggi Badan

Pengukuran tinggi badan menggunakan stadiometer dengan cara memasang stadiometer pada dinding dan lantai yang lurus. Berikut ini langkah-langkah pengukuran tinggi badan yang tepat.

- a) Pastikan sepatu/alas kaki, kaos kaki dan hiasan rambut sudah dilepaskan.
- b) Posisikan anak berdiri tegak lurus di depan stadiometer, pandangan lurus ke depan.
- c) Posisikan anak tegak bebas, bagian belakang kepala, tulang belikat, bokong, dan tumit menempel ke tiang stadiometer. Karena posisi ini sulit dilakukan pada anak obesitas, maka tidak perlu keempat titik tersebut menempel ke dinding, asalkan tulang belakang dan pinggang dalam keseimbangan (tidak membungkuk ataupun menengadah).
- d) Posisikan kedua lutut dan tumit rapat.
- e) Pastikan posisi kepala sudah benar dengan mengecek garis Frankfort.
- f) Tarik alat geser stadiometer sampai puncak kepala anak.
- g) Baca angka pada jendela baca dan mata pembaca harus sejajar dengan garis merah.

- h) Angka yang dibaca adalah yang berada pada garis merah dari angka kecil ke arah angka besar.
 - i) Catat hasil pengukuran tinggi badan dan lakukan pengulangan sebanyak dua kali.
 - j) Hitung rata-rata dari ketiga hasil pengukuran tinggi badan dan catat hasil akhirnya.
- 3) Konsumsi Pangan

Pengambilan data konsumsi pangan menggunakan formulir *semi quantitative food frequency questionnaire* (SQ-FFQ). Kuesioner ini mencakup informasi mengenai jenis makanan yang dikonsumsi oleh subjek dalam waktu tiga bulan terakhir, dengan menambah estimasi jumlah porsi yang dikonsumsi subjek melalui wawancara yang dilakukan sebanyak satu kali.

Analisis asupan gizi yang dikonsumsi dilakukan dengan bantuan aplikasi Nutrisurvey. Analisis kandungan zat gizi dimulai dengan memasukkan nama bahan makanan serta berat yang dikonsumsi subjek ke dalam aplikasi, maka secara otomatis data jumlah kandungan zat gizi baik gizi makro maupun mikro akan ditampilkan. *Display* zat gizi ditampilkan juga dapat diatur sesuai kebutuhan (www.nutrisurvey.de).

Data makanan baru beserta kandungan gizinya yang tidak tersedia dalam aplikasi Nutrisurvey dapat ditambahkan. Cara menambahkan data makanan baru yaitu dengan mencari informasi

kandungan gizi makanan tersebut dari TKPI (Tabel Komposisi Pangan Indonesia) atau DKBM (Daftar Komposisi Bahan Makanan), kemudian masukan data yang di diperoleh ke dalam aplikasi (www.nutrisurvey.de).

4) Status Seng

(a) Cara Pengambilan Darah

Pengambilan data status seng dilakukan dengan bantuan tenaga medis Laboratorium Prodia Tasikmalaya. Sampel darah diambil pada pagi hari dalam kondisi tidak puasa melalui *venipuncture* (pengambilan darah vena). Pengambilan sampel darah dilakukan di ruangan yang sejuk dan minimal cahaya matahari dengan posisi subjek berbaring rileks. Darah sebanyak 6 ml diambil dengan alat suntik (*syringe*), dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer Trash Element* dan disimpan dalam pendingin dengan suhu -20°C .

(b) Cara Analisis Sampel Darah

Berikut ini langkah-langkah dalam analisis konsentrasi seng dalam sampel darah (Bilqis *et al.*, 2022).

- (1) Ambil sampel darah subjek sebanyak 6 ml, masing-masing disimpan di dalam tabung bertutup biru tua yang berisikan EDTA bebas logam.
- (2) Sampel darah kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari

komponen darah lainnya, kemudian pindahkan serum pada tabung yang bersih.

- (3) Tambahkan asam nitrat (HNO_3) ke dalam serum sampel, lakukan pemanasan dan diamkan sampai larutan menjadi jernih atau transparan.
- (4) Siapkan serangkaian larutan standar kalibrasi yang dibuat dengan mencampurkan ICP *multi element standard solution* 10 mg/L sebanyak 5000 μL , standar seng 10 mg/L sebanyak 500 μL dan diluen sebanyak 4500 μL ke dalam labu ukur, kemudian larutan tersebut diaduk sampai homogen.
- (5) Buat larutan standar sebanyak 8 buah dengan diberikan label pada masing-masing tabung. Larutan standar dengan berbagai konsentrasi dibuat secara berurutan dan ditambahkan pelarut untuk mengencerkannya. Larutan deret standar 0 dengan konsentrasi paling rendah dibuat dengan mencampurkan diluen sebanyak 1980 μL dan n-butanol sebanyak 20 μL serta blanko menggunakan HNO_3 2%.
- (6) Larutan kontrol serum dihomogenkan dengan *microtube*, aduk selama 5 menit. Selanjutnya, larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung ICP sebanyak 200 μL . Setelah

itu, tambahkan diluen sebanyak 1800 μL dan aduk kembali.

Kontrol serum dibuat dua kali ulangan.

- (7) Serum sampel yang didapatkan diambil sebanyak 200 μL dan masukkan ke dalam vial ICP. Kemudian tambahkan diluen sebanyak 1800 μL . Monitor hasil analisis secara *real time* menggunakan perangkat kontrol dan pemrosesan data.
- (8) Kalibrasi instrumen menggunakan kurva kalibrasi yang telah disiapkan.
- (9) Ukur sampel serum darah dan kontrol kualitas menggunakan perangkat ICP-MS.
- (10) Verifikasi hasil analisis menggunakan *standard reference material* (SRM) untuk memastikan akurasi.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. *Editing* (pengeditan data)

Hasil wawancara yang diperoleh melalui kuesioner dan form SQ-FFQ, serta hasil pengukuran tinggi badan perlu disunting terlebih dahulu. Jika terdapat data atau informasi yang kurang lengkap dan tidak memungkinkan untuk dilakukan wawancara ulang, maka kuesioner tersebut dikeluarkan (*drop out*).

b. *Skoring* (pemberian nilai)

Pemberian skor dilakukan pada pilihan jawaban tinggi badan subjek untuk menentukan status stunting pada subjek. Status gizi ini

menggunakan parameter antropometri Permenkes Nomor 2 Tahun 2020 Tentang Standar Antropometri Anak. Secara umum rumus perhitungan z-score menurut TB/U adalah (Kementerian Kesehatan RI, 2020):

$$z - score = \frac{\text{Nilai Individu Subjek} - \text{Nilai Median Baku Rujukan}}{\text{Nilai Simpang Baku Rujukan}}$$

Nilai simpang baku rujukan disini maksudnya adalah selisih kasus dengan standar +1 SD atau -1 SD. Jadi apabila TB pada kasus lebih besar daripada median, maka nilai simpang baku rujukannya diperoleh dengan mengurangi +1 SD dengan median. Jika TB kasus lebih kecil daripada median, maka nilai simpang baku rujukannya menjadi median dikurangi dengan -1 SD (Fajar, 2019).

c. *Categorizing* (pengkategorian)

Pengkategorian untuk setiap variabel ditunjukkan pada tabel 3.3.

Tabel 3.3
Pengkategorian Data Penelitian

Variabel	Nilai	Kategori	Sumber
Asupan Protein			
Usia 24-36 bulan	<16 mg	Kurang	Rejeki dan Panunggal (2016)
	≥16 mg	Cukup	
Usia 37-59 bulan	<20 mg	Kurang	
	≥20 mg	Cukup	
Asupan Seng			
Usia 24-36 bulan	<3,2 mg	Kurang	Rejeki dan Panunggal (2016)
	≥3,2 mg	Cukup	
Usia 37-59 bulan	<4 mg	Kurang	
	≥4 mg	Cukup	
Status Seng			
Kejadian Stunting	<70 µg/dl	Defisiensi	Gibson <i>et al.</i> (2008)
	≥70 µg/dl	Normal	
Kejadian Stunting	<-2 SD	Ya	Pramono <i>et al.</i> (2016)
	≥-2 SD	Tidak	

d. *Coding* (pengkodean)

Berikut pengkodean yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan pada tabel 3.4.

Tabel 3.4
Pengkodean Data Penelitian

Variabel	Kategori	Kode
Asupan Protein	Kurang	0
	Cukup	1
Asupan Seng	Kurang	0
	Cukup	1
Status Seng	Defisiensi	0
	Normal	1
Kejadian Stunting	Ya	0
	Tidak	1

e. *Entering* (memasukkan data)

Entering pada penelitian ini yaitu memasukkan data ke dalam aplikasi software *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) untuk dianalisis.

f. *Cleaning* (pemeriksaan ulang data)

Cleaning yaitu tahap membersihkan kesalahan yang mungkin terjadi selama proses input data. *Cleaning* data pada penelitian ini dilakukan dengan cara analisis frekuensi pada semua variabel. Data *missing* dibersihkan dengan menginput kembali data yang benar.

g. *Tabulating* (penyajian data ke dalam tabel)

Setelah seluruh data diperiksa kelengkapannya, selanjutnya data disajikan dan dikelompokkan ke dalam tabel distribusi frekuensi sehingga dapat dilakukan interpretasi data berdasarkan variabel yang diteliti.

2. Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan aplikasi SPSS versi 25. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk mengetahui gambaran atau karakteristik dari variabel-variabel yang diteliti. Data responden dan subjek berbentuk data kategorik sehingga hasil analisis univariat disajikan pada tabel distribusi frekuensi. Data responden meliputi pendidikan terakhir dan pekerjaan. Adapun data karakteristik subjek yaitu usia, jenis kelamin, dan tinggi badan.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat digunakan untuk menguji hipotesis agar diketahui apakah terdapat hubungan yang signifikan antara variabel. Pengujian hipotesis menggunakan uji *Chi-Square* dengan menggunakan tingkat signifikan 5% ($\alpha = 0,05$).