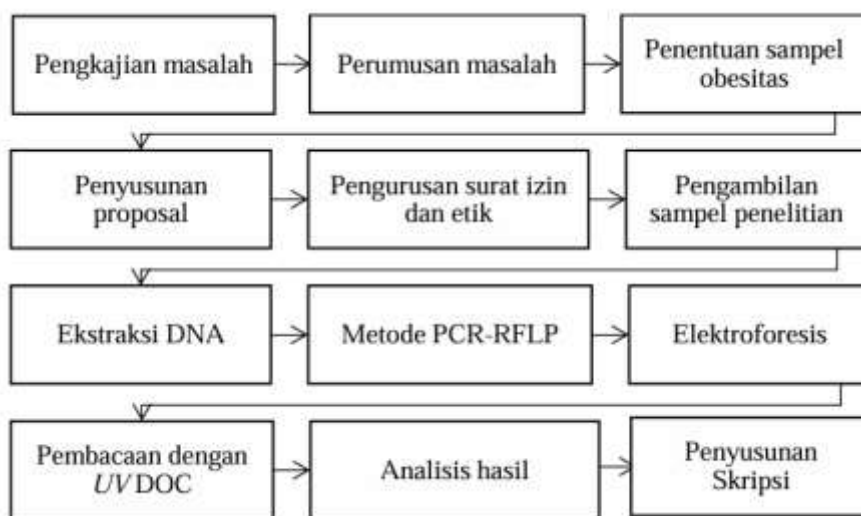


BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif analitik. Penelitian deskriptif analitik digunakan untuk menggambarkan atau mendeskripsikan suatu objek yang diteliti, dalam penelitian ini tidak hanya menggambarkan karakteristik IMT dan polimorfisme gen *MC4R* melalui analisis pola pita DNA pada gel elektroforesis, tetapi juga untuk menganalisis hubungan antara keduanya. Sedangkan rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan *cross sectional* yang digunakan untuk mengetahui korelasi antara variabel-variabel dalam populasi dengan cara mengumpulkan data sekaligus pada satu saat tertentu saja (Sugiyono, 2024). Data yang diambil mencakup pengukuran indeks massa tubuh obesitas, deteksi polimorfisme gen *MC4R* dengan cara pengambilan sampel darah responden dan setelah itu sampel dilakukan pemeriksaan di laboratorium.

B. Alur Penelitian



Gambar 2 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di UPTD Puskesmas II Denpasar Utara. Sedangkan untuk penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar Jl. Pulau Moyo No 33 Pedungan, Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Penelitian dimulai dari bulan April 2025 hingga Mei 2025.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah gen *MC4R* penderita obesitas di UPTD Puskesmas II Denpasar Utara.

2. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang berkunjung dan melakukan pemeriksaan dengan $IMT \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$ di UPTD Puskesmas II Denpasar.

3. Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu sebagian dari populasi pasien yang berkunjung dan melakukan pemeriksaan dengan $IMT \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$ di UPTD Puskesmas II Denpasar Utara yang telah memenuhi kriteria yang sudah ditetapkan penulis.

4. Besar sampel

Besar sampel dalam penelitian ini, didasarkan pada penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya oleh (Angria dan Susanti, 2024), selain itu juga terdapat penyesuaian kemampuan peneliti dalam penyediaan reagen penelitian, yang meliputi antara lain : kit ekstraksi, PCR *mix*, primer dan enzim retriksi. Berdasarkan pertimbangan tersebut, besar sampel penelitian sebanyak 15 sampel.

5. Kriteria sampel penelitian

a. Kriteria Inklusi

- 1) Individu yang bersedia menjadi responden dengan menandatangani *informed consent*.
- 2) Individu yang memiliki $IMT \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Sampel darah yang tidak memenuhi kriteria kualitas dan kuantitas DNA untuk analisis PCR-RFLP seperti, sampel dengan keadaan lisis, lipemik, ikterik, *clumping* dan didiamkan terlalu lama yang dapat menyebabkan perubahan biologis dan degradasi yang mengurangi keakuratan hasil analisis, terutama dalam tahap ekstraksi DNA.
- 2) Individu yang tidak bersedia untuk menjadi responden.

6. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah metode pengambilan sampel secara tidak acak atau *non probability* sampling. Dalam metode ini, peneliti telah memiliki pemahaman mengenai karakteristik populasi yang diteliti dan secara selektif menetapkan individu-individu yang memenuhi kriteria tertentu untuk dijadikan sebagai sampel penelitian (Sugiyono, 2024) .

a. Alat dan Bahan

1) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikropipet, *thermal cycler*, *UV documentation* (UV-DOC), elektroforator, *vortex*, *spindown*, *centrifuge*, *incubator*, *mikrocentrifuge*, *refrigerator*, *laminar air flow*, tempat limbah padat dan cair, *erlenmeyer*, *beaker glass*, gelas ukur, *hotplate*, *magnetic stirrer* dan rak tabung.

2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel *whole blood* EDTA pasien sebagai sumber DNA, *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega), *cell lysis solution*, *nuclei lysis solution*, *dna rehydration solution*, *protein precipitation solution*, *RNase A solution*, reagen *PCR master mix*, *taq 2x master mix*, 25 mM $MgCl_2$, primer *forward* 5'-GCA GCC GAT GTG AGC ATG T-3' 10 μM , primer *reverse* 5'-AGG CTG CAA ATG GAT GCA A-3' 10 μM , PCR-grade H_2O , *template DNA*, H_2O/NFW , enzim restriksi *EcoRI*, *microtube*, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, isopropanol, *ethanol 70 %*, *NFW (nuclease free water)*, *TAE (50X)*, *TE buffer*, *loading dye*, *DNA ladder 100 bp*, *staining gel*, bubuk *agarose*, *aquadest*, *tissue*, *shield/parafilm* dan *hand gloves*.

b. Prosedur Kerja

1) Pra analitik

a) Desain primer

(1) Pencarian sekuens gen pada NCBI

- (a) Buka situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).
 - (b) Ubah opsi pencarian dari "*All databases*" menjadi "*gene*", lalu ketik nama gen *MC4R* dan tekan *enter*.
 - (c) Pilih hasil yang sesuai dengan spesies yang diinginkan seperti *Homo sapiens*.
 - (d) Cari bagian *FASTA sequence* dan salin urutan nukleotida (ATGC).
- ##### (2) Analisis *restriction site* dengan benchling
- (a) Buka benchling, klik *create project* untuk membuat proyek baru.
 - (b) Pilih *new DNA/RNA sequence* dan tempelkan urutan FASTA yang telah disalin sebelumnya.

- (c) Buka bagian *settings* dan aktifkan opsi *cut site* untuk melihat lokasi pemotongan enzim restriksi, kemudian identifikasi lokasi pemotongan enzim *EcoRI* pada urutan nukleotida.
- (3) Desain primer dengan primer *express* 3.0.1
 - (a) Buka aplikasi primer *express*, tempelkan urutan DNA dari benchling
 - (b) Tentukan lokasi primer yang akan mengapit daerah yang mengandung situs pemotongan *EcoRI*.
 - (c) Pastikan panjang primer sekitar 18-25 bp, dengan *GC content* 40-60%, dan suhu *melting* primer (T_m) optimal 50-60°C.
 - (d) Simpan primer *forward* 5'-GCA GCC GAT GTG AGC ATG T-3' dan *reverse* 5'-AGG CTG CAA ATG GAT GCA A-3' yang telah dibuat.
- (4) Verifikasi primer
 - (a) Buka situs NCBI *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).
 - (b) Pilih Primer-BLAST untuk mengevaluasi spesifisitas pasangan primer.
 - (c) Pada kolom *forward* primer, tempelkan urutan primer *forward* yang telah dibuat dan pada kolom *reverse*, tempelkan urutan primer *reverse*.
 - (d) Pilih *RefSeq Representative Genomes* untuk memastikan hasil spesifik pada *database* referensi.
 - (e) Pilih *Homo sapiens* agar pencarian terbatas pada genom manusia.
 - (f) Klik BLAST dan tunggu hasil analisis primer.
 - (g) Hasil akan menunjukkan apakah primer hanya menargetkan satu lokasi pada genom manusia atau memiliki hasil lain. Pastikan hanya ada satu produk amplifikasi utama dengan ukuran sesuai target dengan idealnya hanya ada 1 produk pada *template* target.

- (h) Jika ada lebih dari satu produk, primer mungkin tidak spesifik dan harus didesain ulang
- (i) Setelah desain primer dikonfirmasi, primer forward dan reverse dapat dipesan ke vendor penyedia sintesis oligonukleotida.

b) Pengambilan sampel

- (1) Petugas memakai *hand gloves*.
- (2) Petugas mengkonfirmasi identitas pasien seperti nama, usia, jenis kelamin dan menulis data pasien pada tabung darah EDTA.
- (3) Petugas menyiapkan spuit 3 cc steril / jarum *vacutainer*.
- (4) Petugas menyiapkan kapas alkohol 70 % / Alkohol swab.
- (5) Petugas menyiapkan *tourniquet*.
- (6) Petugas meletakkan semua alat pada meja kerja.
- (7) Petugas meletakkan tangan pasien lurus di atas meja dengan telapak tangan menghadap ke atas.
- (8) Petugas mengikat lengan dengan *tourniquet* untuk membendung aliran darah.
- (9) Petugas menyuruh pasien mengepal dan membuka tangannya beberapa kali untuk menguji pembuluh darah.
- (10) Petugas mencari lokasi pembuluh darah yang akan ditusuk dengan ujung telunjuk kiri dalam keadaan tangan pasien mengepal.
- (11) Petugas membersihkan lokasi pengambilan darah dengan kapas Alkohol 70% dengan arah melingkar ke arah luar dan membiarkan kering
- (12) Petugas meregangkan kulit dengan jari telunjuk dan ibu jari kiri diatas pembuluh darah yang akan ditusuk kemudian, masukkan jarum dengan sisi

miring menghadap ke atas membentuk sudut ± 25 derajat lalu menghisap darah pasien sesuai kebutuhan.

- (13) Petugas membuka kepalan tangan pasien dan tourniquet diregangkan lalu hisap darah sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan.
- (14) Petugas mencabut spuit pelan – pelan.
- (15) Petugas meletakkan kapas alcohol dan menekan pada bekas tusukan dan ditutup dengan plesterin.
- (16) Petugas mengambil darah dan dimasukkan kedalam tabung melalui dinding apabila pengambilan menggunakan spuit, sedangkan jika menggunakan jarum *vacuntainer* tabung dimasukkan setelah darah terlihat pada indikator jarum dan darah ditampung sesuai volume kemudian tabung dilepas (Mojopanggung, 2017).

c) Persiapan *Master Mix* PCR

- (1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).
- (2) *Vortex* dan *centrifuge MyTaq™ One-Step RT-PCR Kit* setelah dicairkan.
- (3) Pastikan komponen reagen PCR *mix* mencair semua, kemudian pipet komponen reagen PCR *mix* ke dalam *microtube* 1,5 ml kecuali *template* DNA.
- (4) Total reaksi yang dibuat adalah 1 reaksi untuk 1 sampel. Jadi volume total reagen yang dibuat yakni 25 μ l untuk 1 reaksi, dengan ketentuan untuk menambahkan komponen sebagai berikut :

Tabel 4
Komponen *Master Mix* PCR

<i>Component</i>	Volume (1X reaksi)	Volume (17X reaksi)
<i>2x MyTaq One-Step Mix</i>	12,5 µl	212,5 µl
<i>Forward Primer (10 µM)</i>	0,5 µl	8,5 µl
<i>Reverse Primer (10 µM)</i>	0,5 µl	8,5 µl
<i>Template DNA</i>	4 µl	68 µl
<i>PCR-grade H₂O</i>	7,5 µl	127,5 µl
Total Volume	25 µl	425 µl

(Sumber : Ampliqon IIII, 2021)

- (5) Beri label kode sampel pada bagian tutup tabung PCR.
- (6) Selanjutnya spindown agar reagen atau cairan yang ada di dinding tabung PCR turun ke dasar tabung.
- (7) Masukkan template DNA yang sesuai label kode sampel sebanyak 4 µL pada tabung PCR.
- (8) Homogenkan, kemudian ditutup rapat untuk dilakukan spindown kembali.
- (9) Reagen mix PCR siap di running untuk pada alat thermal cycler (Bioline, 2024).

d) Pembuatan larutan *buffer* TAE 50X (1X)

- (1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk membuat *buffer* TAE (1X) sebanyak 1000 ml.
- (2) Tuangkan 20 ml larutan TAE dengan konsentrasi 50X pada gelas ukur 1000 ml.
- (3) Tambahkan 980 ml *aquadest* atau sampai tanda batas 1000 ml.
- (4) Kemudian tuang ke dalam *erlenmeyer* dan homogenkan dengan manual.
- (5) Tutup *erlenmeyer* menggunakan *aluminium foil* dan beri label nama beserta tanggal pembuatannya

(6) Larutan *buffer* TAE 1000 ml dengan konsentrasi 1X siap digunakan (Dwi Wahyuni, 2017) .

e) Pembuatan gel *agarose* 1,5 %

- (1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- (2) Timbang bubuk *agarose* hingga 2,25 gram, masukkan ke dalam labu *erlenmeyer*.
- (3) Tambahkan 150 ml larutan *buffer* TAE pada labu *erlenmeyer*.
- (4) Letakkan labu *erlenmeyer* di atas *hotplate*, kemudian nyalakan *hotplate* dengan menekan tombol ON.
- (5) Letakkan *magnetic stirrer* ke dalam labu *erlenmeyer*, lalu atur suhu dan kecepatan sesuai yang diinginkan.
- (6) Tunggu hingga larutan benar-benar bening.
- (7) Setelah larutan bening, matikan *hotplate* dengan menekan tombol OFF dan pindahkan labu *erlenmeyer* ke atas meja, tunggu hingga larutan tidak terlalu panas.
- (8) Masukkan 4 µl pewarna gel *red*, kemudian homogenkan
- (9) Tuang larutan *agarose* ke dalam cetakan, kemudian letakkan sisir sesuai tempatnya
- (10) Tunggu larutan hingga mengeras.
- (11) Setelah larutan *agarose* mengeras menjadi gel, lepaskan sisir pada gel *agarose*.
- (12) Letakkan gel *agarose* pada elektroforator.
- (13) Gel *agarose* 1,5% siap digunakan (Rumbiwati dan Trimuratno, 2021).

2) Analitik

a) Ekstraksi DNA

(1) Proses Lisis Sel Darah Merah

- (a) Tambahkan 900 μ L *Cell Lysis Solution* ke dalam tabung mikro 1,5 ml
- (b) Tambahkan 300 uL *whole blood* EDTA.
- (c) Inkubasi campuran pada suhu ruang selama 10 menit, bolak-balik tabung 2-3x selama inkubasi.
- (d) Sentrifugasi dengan kecepatan 13,000 – 16,000 x g selama 20 detik (suhu ruang).
- (e) Buang supernatan tanpa mengganggu pellet putih yang terlihat. Tinggalkan residu cairan sekitar 10 – 20 uL.

(2) Proses Lisis *Nucleic*

- (a) Resuspensi pellet putih dengan *vortex* selama 10-15 detik hingga homogen.
- (b) Tambahkan 300 uL *Nucleic Lysis Solution* dan pipet 5-6x untuk melisiskan *nucleic*.
- (c) Jika larutan sangat kental atau ada gumpalan, inkubasi pada 37°C agar homogen.

(3) Proses Penghilangan RNA

- (a) Tambahkan 1,5 μ L RNase *Solution* ke larutan inti, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.

(4) Presipitasi Protein

- (a) Tambahkan 100 uL Protein *Precipitation* ke larutan *nucleic*, *vortex* selama 10-20 detik.

(b) Sentrifugasi 13,000 – 16,000 x g selama 3 menit (suhu ruang), pelet protein berwarna coklat gelap seharusnya terlihat.

(5) Presipitasi DNA

(a) Transfer supernatan (tanpa protein pelet) ke tabung mikro baru yang berisi 300 µl isopropanol, bolak-balik tabung secara perlahan hingga DNA membentuk massa putih berbentuk benang.

(b) Sentrifugasi 13,000 – 16,000 x g selama 1 menit, DNA akan terlihat seperti pelet putih kecil di dasar tabung.

(6) Pencucian DNA

(a) Buang supernatan, lalu tambahkan 300 µl etanol 70% untuk mencuci pellet DNA

(b) Sentrifugasi kembali pada kecepatan 13,000×g selama 1 menit, lalu buang supernatan

(c) Buang etanol dengan hati-hati menggunakan mikropipet, pastikan pelet DNA tidak terhisap

(7) Rehidrasi DNA

(a) Tambahkan 100 µL DNA *Rehydration Solution* ke pellet DNA.

(b) Inkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam atau diamkan semalaman pada suhu ruang hingga DNA larut sepenuhnya (Corporation, 2023).

b) PCR- RFLP

(1) Masukkan ke dalam alat *thermal cycler* dengan ketentuan suhu sesuai dengan uji pendahuluan yang sudah dilakukan :

Tabel 5
Suhu *Thermal Cycler*

<i>Step</i>	<i>Time</i>	<i>Temperature</i>	<i>Cycle</i>
<i>Polymerase Activation</i>	4 menit	95°C	1X
Denaturasi	30 detik	95°C	35X
<i>Anneling</i>	30 detik	57°C	
<i>Extension</i>	30 detik	72°C	
<i>Final Extention</i>	5 menit	72°C	1X

(Sumber : Ampliqon IIII, 2021)

- (2) Tunggu hingga selesai *running*.
- (3) Simpan hasil PCR pada suhu 4°C bila tidak langsung diproses.
- (4) Campurkan hasil amplifikasi PCR sebanyak 9 µl dengan enzim restriksi *EcoRI* sebanyak 0,5 µl dan *buffer* enzim 2 µl.
- (5) Tambahkan 18 µl *Nuclease Free Water* (NFW) dan homogenkan
- (6) Selanjutnya *spindown* agar reagen atau cairan yang ada di dinding tabung turun ke dasar tabung
- (7) Inkubasi dengan suhu 37°C selama 5 jam.
- (8) Analisis hasil dengan elektroforesis (Nadila, 2019).

c) Elektroforesis

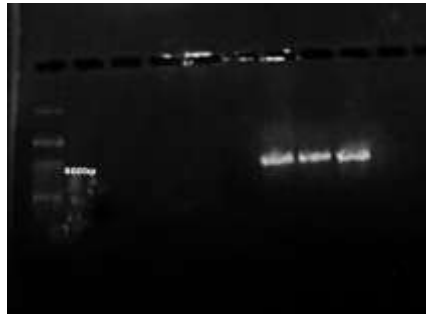
- (1) Masukkan gel *agarose* pada elektroforator lalu tambahkan TAE ke dalam alat elektroforesis hingga menutupi gel *agarose*.
- (2) Masukkan DNA *Ladder* dengan mikropipet sebanyak 6 mikroliter kedalam well pertama
- (3) Ambil sampel ekstraksi DNA dengan mikropipet sebanyak 6 mikroliter

- (4) Kemudian injeksikan kedalam sumuran gel agarose. - Lakukan prosedur tersebut berulang pada sampel lainnya. - Setelah semua terinjeksi ke dalam sumuran gel agarose, programkan alat elektroforesis.
- (5) Tunggu selama 77 menit untuk proses elektroforesis
- (6) Setelah 77 menit dan alat sudah berhenti beroperasi hasil dapat di baca di dalam UV Documentation (FTTM ITB, 2018).

d) Pembacaan hasil di *UV Documentation*

- (1) Sambungkan kabel alat *UV Documentation* pada stop kontak.
- (2) Nyalakan alat dengan menekan tombol ON.
- (3) Nyalakan lampu pada alat.
- (4) Buka pintu alat *UV Documentation*.
- (5) Letakkan gel *agarose* yang telah ditiriskan pada bagian dalam alat, kemudian tutup kembali.
- (6) Matikan lampu pada alat dan nyalakan *UV*.
- (7) Setelah *UV Transluminator* dinyalakan, pita DNA akan berpendar.
- (8) Hasil dari proses elektroforesis tersebut dapat dilihat pada layar monitor yang terhubung dengan *UV Transluminator*.
- (9) Matikan lampu *UV*, kemudian hidupkan lampu untuk mengidentifikasi gel *agarose*.
- (10) Setelah melakukan proses pengamatan dan dokumentasi, matikan kembali lampu alat.
- (11) Buka pintu alat *UV Documentation*, lalu keluarkan gel *agarose*.
- (12) Lakukan desinfeksi pada bagian dalam alat menggunakan alkohol.
- (13) Tutup kembali pintu alat *UV Documentation*.

(14) Matikan alat dengan menekan tombol OFF (Maharani dan Sumsanto, 2024)



Gambar 3 Hasil Uji Pendahuluan

3) Pasca analitik

- a) Amati hasil yang didapat dan dokumentasikan
- b) Melakukan pencucian alat yang digunakan
- c) Menyimpan sisa bahan yang telah dilakukan pemeriksaan
- d) Melakukan analisis

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer adalah sumber data langsung yang diberikan oleh narasumber kepada peneliti (Sugiyono, 2024). Data primer pada penelitian ini yaitu berupa data nama, usia, jenis kelamin, alamat, nomer telepon, berat badan, tinggi badan, indeks massa tubuh dan polimorfisme gen *MC4R* pada sampel penelitian yang diperoleh dari pemeriksaan laboratorium.

b. Data Sekunder

Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini dikumpulkan dan bersumber dari penelitian-penelitian sebelumnya yaitu jurnal, buku atau literatur yang sudah

dipublikasikan menjadi latar belakang dan landasan teori dalam penyusunan proposal ini. Selain itu, terdapat data dari rekam medis pasien yang menderita obesitas pada studi pendahuluan di UPTD Puskesmas II Denpasar Utara.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang digunakan pada penelitian ini :

a. Wawancara

Wawancara adalah teknik pengumpulan data dengan cara interaksi langsung antara peneliti dan subjek penelitian. Wawancara ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai nama, usia, jenis kelamin, alamat, nomer telepon, perhitungan berat badan, tinggi badan dan indeks massa tubuh oleh peneliti.

b. Observasi

Observasi dilakukan untuk mendapatkan data tentang polimorfisme gen *MC4R* pada sampel penelitian. Peneliti akan melakukan pengambilan darah vena pada responden menggunakan tabung EDTA sebanyak 3 cc yang kemudian dilakukan pemeriksaan di laboratorium.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- a. Formulir *informed consent*, untuk mendapatkan persetujuan tertulis dari subjek penelitian
- b. Formulir kuesioner, untuk mendapatkan informasi dari subjek penelitian dalam menunjang penelitian yang dilakukan
- c. Alat tulis, untuk mencatat dan menulis saat melakukan pengumpulan data
- d. *Smartphone*, untuk mengambil dokumentasi dari kegiatan penelitian yang dilakukan, mulai dari pengambilan sampel dan pemeriksaan di laboratorium.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

a. Editing

Pada tahap ini, peneliti akan mengumpulkan semua hasil pengukuran dan melakukan pemeriksaan kembali mengenai kelengkapan data yang didapatkan. Data dikumpulkan dan dimasukkan sesuai syarat dan kebutuhan peneliti. Pengeditan data dilakukan untuk melengkapi kekurangan atau menghilangkan kesalahan dari data yang didapatkan.

b. Coding

Coding adalah proses melakukan klasifikasi atas jawaban-jawaban dari responden berdasarkan jenis data penelitian yang sudah terkumpul dengan melakukan pemberian kode pada setiap data dalam bentuk angka atau huruf untuk membedakan identitas data yang akan dianalisa.

c. Data Entry

Proses menambahkan data yang sudah dikumpulkan selama penelitian dilakukan ke dalam format yang dapat dianalisis seperti excel atau *software* statistik.

d. Data Cleaning

Melakukan pembersihan data dan mensortir kembali data yang didapat apakah sudah sesuai dengan variabel dan menghubungkan antara jawaban satu dengan yang lain untuk mengetahui adanya konsistensi jawaban.

2. Analisis data

Data yang telah diperoleh akan disusun pada tabel dan dianalisis pada komputer dengan aplikasi SPSS menggunakan Uji *Chi-Square* untuk menguji hubungan antara polimorfisme gen *MC4R* dan indeks massa tubuh. Jika ada hubungan antara

polimorfisme genetik dan kategori indeks massa tubuh, uji ini dapat menunjukkan apakah perbedaan tersebut signifikan. Penelitian ini menggunakan *Uji Chi-Square* karena jenis data yang dikumpulkan sudah sesuai dengan variabel yang dianalisis, tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui hubungan antara polimorfisme gen *MC4R* dan indeks massa tubuh dan tidak memerlukan asumsi distribusi data yang kompleks. Hasil uji *Chi-Square* memberikan nilai statistik (χ^2) dan *p-value* yang mempermudah interpretasi hubungan antar variabel. Jika *p-value* < 0,05 dapat disimpulkan bahwa ada hubungan signifikan antara genotipe dan kategori IMT (Sugiyono, 2024) .

G. Etika Penelitian

Etika penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu (Masturoh dan Anggita T, 2018) :

1. Menghormati atau Menghargai Subjek (*Respect For Person*)
 - a. Kemungkinan risiko dan penyalahgunaan penelitian harus dipertimbangkan secara cermat oleh para peneliti.
 - b. Subjek penelitian yang rentan terhadap bahaya penelitian harus dilindungi.
2. Manfaat (*Beneficence*)

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat tanpa menimbulkan risiko atau kerugian yang signifikan bagi partisipan. Oleh sebab itu, aspek keamanan serta kesejahteraan peserta penelitian harus menjadi prioritas utama dalam setiap tahapan pelaksanaan penelitian.

3. Tidak Membahayakan Subjek Penelitian (*Non Maleficence*)

Penelitian harus mengurangi risiko atau kerugian bagi partisipan penelitian. Untuk menghindari bahaya yang dapat membahayakan partisipan penelitian,

penting bagi peneliti untuk memproyeksikan kemungkinan terjadinya hal-hal yang tidak diinginkan selama penelitian.

4. Keadilan (*Justice*)

Dalam konteks ini, prinsip keadilan berarti memberikan perlakuan yang setara kepada seluruh partisipan tanpa diskriminasi. Penting untuk menegaskan bahwa manfaat dan potensi risiko dari penelitian ini berada dalam batas yang wajar, serta seimbang dengan standar kesehatan yang mencakup aspek fisik, mental, dan sosial.

5. Kerahasiaan (*Confideality*)

Peneliti menjamin kerahasiaan informasi responden dengan tidak mencantumkan identitas pribadi pada kuesioner serta menyimpan seluruh data secara aman agar tidak dapat diakses oleh pihak yang tidak berwenang. Seluruh data yang diperoleh hanya digunakan untuk keperluan penelitian dan tidak akan disebarluaskan kepada pihak lain di luar kepentingan studi.

6. Lembar persetujuan (*Obtaining informed concent*)

Informing merupakan persetujuan responden untuk berpartisipasi dalam penelitian setelah diberi tahu oleh peneliti, pemberian informasi merupakan proses mengomunikasikan gagasan dan isi penelitian kepada responden.