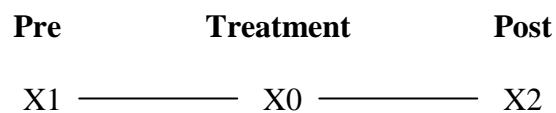


III. METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik komparatif numerik berpasangan, dengan desain *Quasi Ekspreimental*, sebab terdapat variabel yang masih bisa dipengaruhi faktor luar, yaitu kadar trigliserida serum yang masih bisa dipengaruhi oleh asupan makanan sehari-hari antar sampel penelitian yang tidak homogen. Metode pengambilan data yang digunakan adalah *one group before and after* (Notoadmodjo, 2009).



X1 : Pemeriksaan kadar trigliserida serum sebelum perlakuan

X0 : Pemberian minuman brokoli terfortifikasi serat inulin

X2 : Pemeriksaan kadar trigliserida serum sesudah perlakuan

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian ini meliputi area Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, wilayah tempat tinggal sampel populasi di Bandar Lampung, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Garuda Sentra Medika

Jakarta. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari September-Oktober 2015.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas subjek dan objek penelitian yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi penelitian adalah seluruh mahasiswa obesitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung angkatan 2012-2015.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu sehingga dianggap dapat mewakili populasinya. Jumlah sampel penelitian diukur dengan menggunakan rumus besar sampel penelitian analitis kategorik berpasangan. Besar sampel menggunakan rumus berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

Keterangan:

n = besar sampel minimal

$Z\alpha$ = deviate baku normal α

$Z\beta$ = deviate baku normal β

$(x_1 - x_2)$ = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna

s = simpangan baku dari selisih nilai antar kelompok

(Dahlan, 2009)

Berdasarkan rumus diatas maka dapat diperoleh estimasi besar sampel sebanyak :

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1.96 + 0.84)10}{(5)} \right]^2$$

$n = 31,36$ orang dibulatkan menjadi 32 orang

Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen maka dilakukan koreksi untuk responden yang hilang atau mengundurkan diri atau *dropout* sebesar 10% maka total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 orang.

3.3.3 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Memiliki indeks massa tubuh $\geq 25 \text{ kg/m}^2$.
- b. Tidak sedang dalam keadaan sakit dan atau dalam perawatan dokter berkaitan dengan penyakit jantung koroner, diabetes mellitus, hipertensi, gagal ginjal dan penyakit kronik lainnya.
- c. Tidak sedang mengkonsumsi obat-obat anti-hiperlipidemia.
- d. Bersedia mengikuti diet konsumsi makanan yang dianjurkan di dalam penelitian.

3.3.4 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mahasiswa yang memiliki gangguan penyerapan lemak.
- b. Mahasiswa yang *drop out* dari penelitian dikarenakan tidak mengkonsumsi minuman *dietary fiber* inulin dari brokoli terfortifikasi sesuai dengan rancangan penelitian.

3.3.5 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang dilakukan adalah dengan *consecutive sampling*. Pada *consecutive sampling*, semua subjek yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subjek yang diperlukan terpenuhi. *Consecutive sampling* ini merupakan jenis *non-probability sampling* yang paling baik dan sering kali paling mudah untuk dilakukan (Sastroasmoro, 2002).

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variable Independen

Variabel independen atau variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman brokoli terfortifikasi yang mengandung hidrolisat serat inulin sebanyak 20 gr per 50 ml minuman sari brokoli terfortifikasi.

3.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida serum sampel.

3.4.3 Variabel *Confounding* (Variabel Perancu)

Variabel perancu dalam penelitian ini adalah asupan makan sampel sehari-hari yang tidak dihomogenisasi, aktivitas dan hormonal.

3.5. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi	Serat larut air yang terdapat dalam minuman brokoli terfortifikasi, dengan kandungan serat sebanyak 20 gr per 50 ml minuman brokoli yang dianalisis dengan metode <i>Cystein carbazole</i> . Pemberian minuman brokoli dilakukan sekali sehari selama 28 hari. Minuman brokoli didapatkan dari Pusat Penelitian Kimia LIPI, PUSPIPTEK.	<i>Spektrofotometer Uv-Vis</i>	gr/ml	Numerik
2.	Kadar Trigliserida	Kadar trigliserida diukur dari serum plasma darah, yang diambil dari vena mediana cubiti sebanyak 3 cc. Pemeriksaan kadar trigliserida menggunakan <i>Autochemical Analyzer</i> dengan metode GPO-PAP di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Garuda Sentra Medika Jakarta	<i>Autochemical Analyzer</i>	mg/dL	Numerik
3.	Obesitas	Suatu kondisi yang ditandai dengan penimbunan jaringan lemak tubuh secara berlebihan.	Timbangan dan <i>microtoise</i>	Obesitas jika didapatkan hasil $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$	Numerik

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Sduit 3 cc
- b. Kapas, alkohol dan pembendung yang dapat digunakan dan mudah dilepas
- c. Tip biru dan kuning
- d. *Vacutainer plain*
- e. *Autochemical Analyzer*
- f. Sentrifugator
- g. Cup sampel 3 cc
- h. Timbangan
- i. *Microtoise*

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, pertama adalah minuman brokoli terfortifikasi serat inulin yang mengandung hidrolisat serat inulin sebanyak 20 gr per 50 ml minuman sari brokoli terfortifikasi sebagai variabel bebas. Karakteristik minuman sari brokoli dengan fortifikasi serat inulin ini meliputi *Cholesterol Binding Capacity* (CBC) 23,08 mg/g serat total (TDF = *Total Dietary Fiber*), *Soluble Dietary Fiber* (SDF) 5,57 %, *Insoluble Dietray Fiber* (IDF) 13,22%, total padatan 23,14%, total gula 849,09 mg/ml, dan gula reduksi 164,16 mg/ml. Karakteristik minuman sari brokoli dengan fortifikasi serat inulin ini diperoleh berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Susilowati dan Farah (Susilowati, 2013;

Farah, 2014). Minuman brokoli dengan fortifikasi serat inulin didapatkan dari Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan. Bahan kedua adalah reagen untuk analisis fraksi lemak darah (reagen trigliserida), dan bahan terakhir adalah sampel darah sebesar 3 cc.

3.7 Prosedur dan Alur Penelitian

3.7.1 Prosedur Penelitian

Oberservasi atau pengamatan terhadap pembuatan minuman serat inulin yang dilakukan di Pusat Penelitian LIPI Kimia di Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (PUSPIPTEK) Serpong-Tangerang Selatan dilakukan sebelum memulai penelitian. Kemudian penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unila. Penelitian dilakukan dengan tujuan melihat apakah terdapat perbedaan kadar trigliserida responden sebelum dan sesudah diberi serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi yang diberikan selama empat minggu atau 28 hari. Sebelum perlakuan intervensi diberikan, kadar trigliserida serum responden diperiksa terlebih dahulu, kemudian diperiksa kembali setelah 28 hari.

1. Observasi pembuatan minuman serat inulin dari brokoli terfortifikasi di Puslit LIPI Kimia, PUSPIPTEK Serpong (Farah, 2014).
 - a. Produksi hidrolisat inulin komersial dengan tahapan hidrolisis suspensi inulin dengan B-amilase dan selanjutnya dengan inulinase dari regenerasi kapang *Acremonium* CBS-3 dan *Aspergillus clavatus* CBS-5.

- b. Pemekatan gelatin.
 - c. Formulasi hidrolisat inulin, gelatin dan ekstrak brokoli.
 - d. Emulsifikasi pada 8000 rpm, 15 menit.
 - e. Formulasi minuman sari brokoli.
2. Penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian
- Responden dikumpulkan dan diberi penjelasan mengenai maksud dan tujuan dari penelitian yaitu mengukur trigliserida serum. Pengukuran kadar trigliserida bagi kelompok eksperimen adalah setelah responden diminta mengkonsumsi serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi. Dijelaskan juga bahwa akan ada prosedur pengambilan sampel darah dari vena. Selain itu, dijelaskan juga kemungkinan-kemungkinan yang dapat terjadi setelah mengkonsumsi serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi yaitu meningkatnya frekuensi buang air besar (BAB), *flatulens* (buang angin) dan penurunan berat badan.
3. Pengisian *informed consent*
- Responden akan ditanyakan kesanggupannya untuk berpartisipasi dalam penelitian ini dan jika responden menyetujui, maka akan diminta untuk mengisi lembar *informed consent*.
4. Pengukuran tinggi badan dan berat badan untuk menentukan IMT
- Langkah ini dilakukan untuk memastikan bahwa subjek penelitian memiliki kriteria IMT yang diinginkan, yaitu $\geq 25 \text{ kg/m}^2$.

Tahapan pengukuran tinggi badan dan berat badan untuk menentukan IMT meliputi:

- a. Pengukuran tinggi badan dilakukan dengan alat *microtoise*. Posisi responden diatur sehingga responden berdiri membelakangi dinding dengan kepala tegak, kedua lutut dan tumit rapat dan bagian pantat, punggung dan kepala bagian belakang menempel pada dinding. Kemudian *microtoise* ditarik sampai puncak kepala pasien, lalu hasilnya dibaca dan dicatat.
- b. Pengukuran berat badan dilakukan dengan alat ukur timbangan. Timbangan dikalibrasi terlebih dahulu. Kemudian, responden diminta naik ke tengah timbangan. Selanjutnya, peneliti membaca angka yang ditunjukkan dan melakukan pencatatan.
- c. Menghitung Indeks Massa Tubuh (IMT) dengan menggunakan rumus:

$$IMT = \frac{\text{Berat badan (kg)}}{[\text{Tinggi badan (m)}]^2}$$

5. Pengambilan sampel darah awal (*Pretest*)

Pengambilan sampel darah awal dilakukan sebagai *pretest*, yang nantinya akan menjadi indikator ada tidaknya perubahan dalam kadar trigliserida serum. Sampel darah responden diambil dari vena mediana cubiti dengan spuit (jarum suntik) sebanyak 3 cc. Darah kemudian dimasukkan ke tabung reaksi *vacutainer plain*.

6. Pengumpulan sampel darah dan prosedur pengukuran kadar trigliserida serum.

Trigliserida ditentukan setelah hidrolisis enzimatis dengan lipase. Darah sebanyak 3 cc kemudian didiamkan 10 menit kemudian disentrifus menggunakan *sentrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serumnya. Sampel atau standar diambil sebanyak 10 µl dan dicampurkan dengan 1000 µl pereaksi kit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung lalu dicampurkan sampai homogen. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

Tabel 4. Prosedur pencampuran reagen trigliserida (Yana, 2014)

	Blanko	Standar/ kontrol	Sampel
Reagen kerja	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Standar	-----	10 µl	-----
Serum	-----	-----	10 µl

7. Pemberian Serat Inulin dari Minuman Brokoli Terfortifikasi

Serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi diberikan sekali sehari selama 28 hari. Untuk meminimalisir ketidakpatuhan yang mungkin dilakukan responden, pemberian serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung di saat sebelum pelaksanaan kuliah/ kegiatan akademik responden.

8. Pemberian *Food Recall*, Kuesioner Aktivitas Fisik dan Penjelasan Cara Pengisian

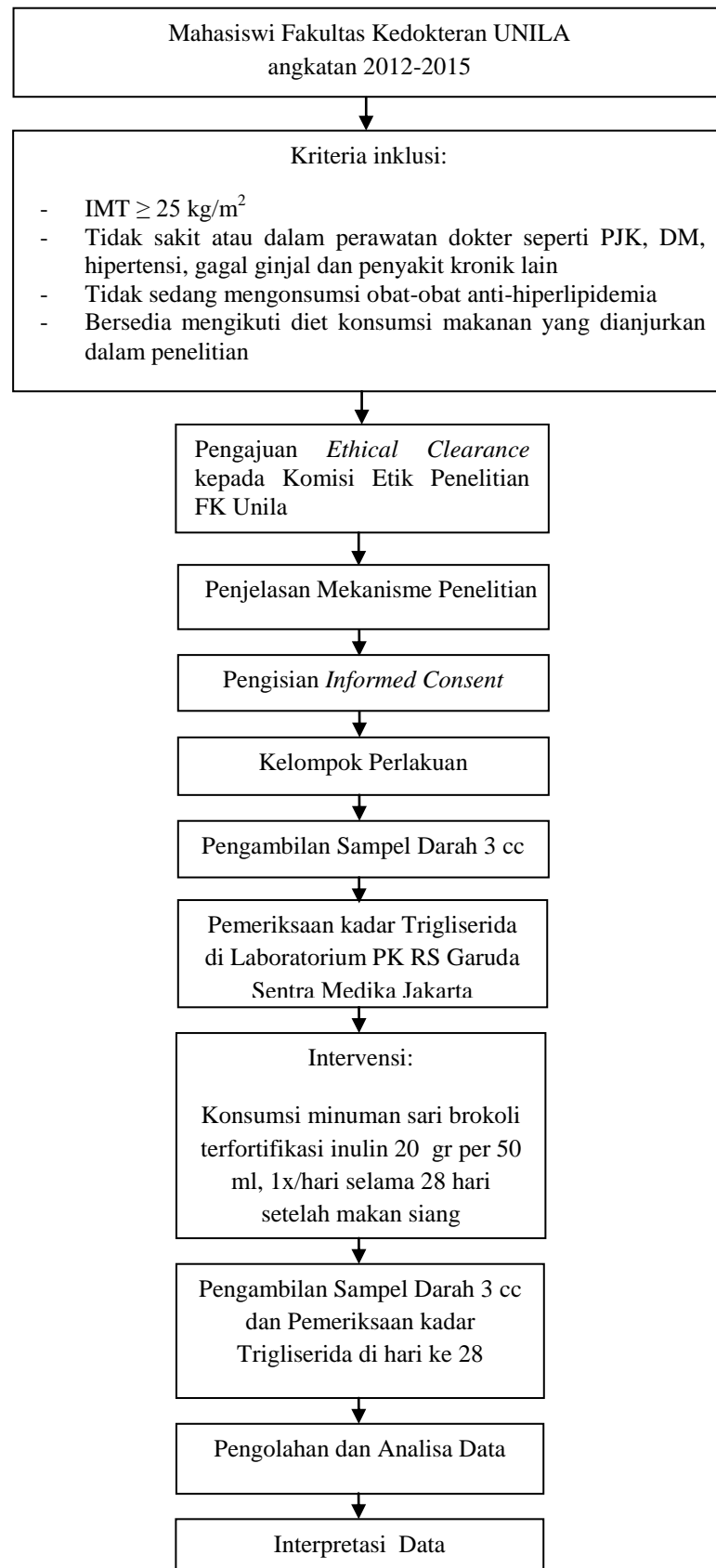
Untuk meminimalisir pengaruh dari asupan makanan responden sehari-hari yang saling berbeda satu sama lain, maka responden juga diminta mengisi *food recall*. *Food recall* berupa pencatatan makanan/minuman apa yang telah dikonsumsi sebelumnya, disertai pencatatan seberapa besar porsi yang dikonsumsi. Kuesioner Aktivitas Fisik digunakan untuk melihat secara keseluruhan aktivitas responden selama mengikuti penelitian.

9. Pengambilan Sampel Darah Responden hari ke 28

Pengambilan sampel darah di hari ke 28 merupakan *post test* dalam penelitian ini. Sampel darah responden diambil dari vena mediana cubiti dengan spuit (jarum suntik) sebanyak 3 cc. Darah kemudian dimasukkan ke *vacutainer plain* dan didiamkan beberapa menit.

10. Pengumpulan sampel darah dan pemeriksaan fraksi lipid (trigliserida) dengan *Autochemical Analyzer* setelah 28 hari perlakuan.

3.7.2 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

3.8 Rencana Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan data

Data yang telah diperoleh dari proses pengumpulan data akan diubah kedalam bentuk tabel - tabel, kemudian data diolah menggunakan program *software* uji statistik dengan nilai $\alpha = 0,05$. Kemudian, proses pengolahan data menggunakan program komputer ini terdiri beberapa langkah :

- *Coding*, untuk mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian kedalam simbol yang cocok untuk keperluan analisis.
- *Data entry*, memasukkan data kedalam komputer.
- Verifikasi, memasukkan data pemeriksaan secara visual terhadap data yang telah dimasukkan kedalam komputer.
- *Output* komputer, hasil yang telah dianalisis oleh komputer kemudian dicetak.

3.8.2 Analisis Statistik

Analisis statistik untuk mengolah data yang diperoleh akan menggunakan program *software* uji statistik dimana akan dilakukan 2 macam analisa data, yaitu analisa univariat dan analisa bivariat.

a. Analisa Univariat

Analisa ini digunakan untuk menentukan distribusi frekuensi variabel bebas dan variabel terikat.

b. Analisa Bivariat

Analisa bivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat dengan menggunakan uji statististik.

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut (Dahlan, 2013):

1. Uji normalitas data

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran distribusi suatu data apakah normal atau tidak. Uji normalitas data berupa uji *Kolmogorov-Smirnov* digunakan apabila besar sampel > 50 sedangkan uji *Shapiro-Wilk* digunakan apabila besar sampel ≤ 50 . Dikarenakan pada penelitian kali ini besar sampel ≤ 50 maka uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk*. Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk z dan diasumsikan normal. Didapatkan nilainya di atas 0,05 maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas.

2. Uji Hipotesis Komparatif Numerik Dua Kelompok Berpasangan

Pengujian parametrik dilakukan untuk menguji perbedaan rerata kadar trigliserida serum sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (intervensi dengan konsumsi serat inulin) apabila sebarannya normal.

Uji parametrik yang digunakan adalah T-test berpasangan.

3.9 Dummy Tabel

Tabel 5. Dummy Tabel untuk hasil t-test berpasangan (data berdistribusi normal)

	Rerata (s.b)	Selisih (s.b)	IK95%	Nilai p
Kadar trigliserida sebelum pemberian serat pangan inulin dari minuman sari brokoli terfortifikasi (n=35)				
Kadar trigliserida sesudah pemberian serat pangan inulin dari minuman sari brokoli terfortifikasi (n=35)				

Tabel 6. Dummy Tabel untuk hasil uji Wilcoxon (data berdistribusi tidak normal)

	Median (Minimum-Maksimum)	Nilai p
Kadar trigliserida sebelum pemberian serat pangan inulin dari minuman sari brokoli terfortifikasi (n=35)		
Kadar trigliserida sesudah pemberian serat pangan inulin dari minuman sari brokoli terfortifikasi (n=35)		

3.10 Etik Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik penelitian kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan dikeluarkannya keterangan lulus uji etik (*Ethical Approval*) No: 2576/UN26/8/DT/2015.