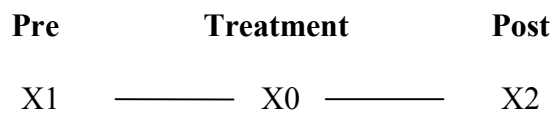


## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian quasi eksperimental. Desain penelitian yang dipilih adalah quasi eksperimental, sebab terdapat variabel yang masih bisa dipengaruhi faktor luar, yaitu kadar kolesterol yang masih bisa dipengaruhi oleh asupan makanan sehari-hari antar sampel penelitian yang tidak homogen. Metode penelitian yang digunakan adalah dengan melakukan pretest, intervensi dan posttest dalam 1 kelompok tanpa kelompok kontrol, penelitian tanpa kontrol, dengan menggunakan rancangan penelitian *one group before and after* (Notoadmodjo, 2009).



X1 : Pemeriksaan kadar kolesterol total serum sebelum perlakuan

X0 : Pemberian minuman brokoli terfortifikasi serat inulin

X2 : Pemeriksaan kadar kolesterol total 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 dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Patologi Klinik RS 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 (subset) dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu sehingga dianggap dapat mewakili populasinya. Jumlah sampel penelitian diukur dengan menggunakan rumus besar sampel penelitian analitis numerik berpasangan. Besar sampel menggunakan rumus berikut:

$$n = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(x1 - x2)} \right]^2$$

Keterangan:

n = besar sampel minimal

Z $\alpha$  = deviate baku normal  $\alpha$  (tingkat kesalahan tipe I) = 5 %, maka

$$Z\alpha = 1,96 (\alpha = 5\%)$$

Z $\beta$  = deviate baku normal  $\beta$  (tingkat kesalahan tipe II) = 20 %, maka

$$Z\beta = 0,842 (\beta = 20\%)$$

(x1-x2) = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna

s = simpangan baku dari selisih nilai antar kelompok = 10

(didapatkan dari penelitian oleh Effendi *et.al*, 2009)

(Dahlan, 2014)

Berdasarkan rumus diatas maka dapat diperoleh estimasi besar sampel sebanyak :

$$n = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(x1 - x2)} \right]^2$$

$$n = \left[ \frac{(1,96 + 0,84)10}{(5)} \right]^2$$

= 31,36 orang dibulatkan menjadi 32 orang

Ditambah dengan definisi operasional sebesar 10% dari besar sampel maka

$$= 32 + (10\% \times 32)$$

= 35,2 orang dibulatkan menjadi 35 orang

Jadi, berdasarkan rumus sampel di atas, jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 orang

### **3.3.3 Kriteria Inklusi**

- a. Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unila
- b. Memiliki indeks massa tubuh  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$
- c. Tidak sedang dalam keadaan sakit dan atau dalam perawatan dokter berkaitan dengan penyakit jantung koroner, diabetes mellitus, hipertensi, gagal ginjal, sindroma nefrotik, penyakit hipo/hipertiroid, penyakit hati kronis dan penyakit kronik lainnya
- d. Tidak sedang mengonsumsi obat-obat anti-hiperlipidemia
- e. Bersedia mengikuti diet konsumsi makanan yang dianjurkan di dalam penelitian
- f. Bersedia berpuasa 8 jam sebelum pengambilan darah

### **3.3.4 Kriteria Eksklusi**

- a. Mahasiswa yang memenuhi kriteria inklusi namun tidak bersedia menjadi sampel dalam penelitian ini.
- b. Mahasiswa yang drop out dari penelitian dikarenakan tidak mengonsumsi 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*.

## **3.4 Identifikasi Variabel Penelitian**

### **3.4.1 Variabel Independen**

Variabel independen atau variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman brokoli terfortifikasi yang mengandung 20 gr minuman brokoli terfortifikasi. Kecukupan serat per hari menurut US FDA adalah 25 g/2000 kalori atau 30 g/2500 kalori, sehingga dosis serat inulin ini adalah dosis yang aman untuk dikonsumsi. Minuman brokoli terfortifikasi serat inulin ini akan dikonsumsi oleh sampel penelitian selama 28 hari, berdasarkan acuan dari penelitian yang dilakukan oleh Causey *et al* (2000) ( dalam Schaafsma & Slavin, 2015).

### **3.4.2 Variabel Dependen**

Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total serum darah sampel.

### **3.4.3 Variabel Confounding (Varriabel Perancu)**

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

Tabel 3 Definisi Operasional Variabel

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. Pemberian minuman brokoli dilakukan 1 kali sehari selama 28 hari. Minuman brokoli didapatkan dari Pusat Penelitian Kimia LIPI, PUSPIPTEK.	Metode Cystein Carbazole (Spektofotometer UV-Vis)	gr/ml	Numerik
2	Kadar Kolesterol Total	Kadar kolesterol dalam serum plasma darah, yang diambil dari darah vena sebanyak 3 cc setelah berpuasa 8 jam	Autochemical analyzer	mg/dl	Numerik
3	Obesitas	Suatu keadaan dengan akumulasi lemak yang tidak normal atau berlebihan di jaringan adiposa sehingga dapat mengganggu kesehatan	Timbangan dan microtoise	Obesitas tingkat I dan tingkat 2 (IMT $\geq$ 25kg/m <sup>2</sup> )	Interval

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat Penelitian

- a. Autochemical Analyzer Palio 300
- b. Spuit 3 cc

- c. Kapas, alkohol dan pembendung yang dapat digunakan dan mudah dilepas
- d. Tabung vacuntainer plain (tanpa EDTA)
- e. Timbangan
- f. Tik kuning
- g. Microtoise
- h. Cool box
- i. Mesin sentrifugasi

### **3.5.2 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 berdasar penelitian sebelumnya 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 sampel darah sebesar 3cc untuk masing-masing sampel penelitian.

### **3.6 Prosedur dan Alur Penelitian**

#### **3.6.1 Prosedur Penelitian**

Sebelum dilakukan prosedur penelitian berupa pemberian serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi terhadap kadar kolesterol mahasiswa obesitas, dilakukan terlebih dahulu penelitian pendahuluan berupa observasi/ pengamatan terhadap pembuatan minuman serat inulin yang dilakukan di Pusat Penelitian LIPI Kimia di Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (PUSPIPTEK) Serpong-Tangerang Selatan.

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. Mengumpulkan populasi penelitian dan wawancara

Sejumlah mahasiswa obesitas yang merupakan populasi penelitian yaitu mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dari angkatan 2012-2015, dikumpulkan untuk dilakukan wawancara awal untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

3. Pengukuran tinggi badan dan berat badan dan penentuan IMT

Langkah ini dilakukan untuk memastikan bahwa subjek penelitian memiliki kriteria IMT yang diinginkan, yaitu 25-29,9 kg/m<sup>2</sup>.

Tahapannya 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 ditark 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 :

$$\frac{\text{Berat badan (kg)}}{\text{Tinggi Badan (m)}^2}$$

4. Penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian

Responden dikumpulkan dan diberi penjelasan mengenai maksud dan tujuan dari penelitian yaitu mengukur kadar kolesterol total sebelum dan sesudah mengonsumsi minuman sari brokoli terfortifikasi serat inulin. Dijelaskan juga bahwa akan ada prosedur pengambilan sampel darah dari vena. Selain itu, dijelaskan juga kemungkinan-kemungkinan yang dapat terjadi setelah mengonsumsi serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi yaitu meningkatnya frekuensi buang air besar (BAB) dan buang angin (*flatulence*).

5. Pengisian informed consent

Responden akan ditanyakan kesanggupannya untuk berpartisipasi dalam penelitian ini dengan mengisi lembar informed consent.

6. Pengambilan sampel darah awal (*Pretest*)

Pengambilan sampel darah awal dilakukan sebagai *pretest*, yang nantinya akan menjadi indikator ada tidaknya perubahan dalam kadar kolesterol LDL. Sampel darah responden diambil dari vena mediana cubiti dengan spuit (jarum suntik) sebanyak 3 cc. Darah kemudian dimasukkan ke tabung Vacutainer Plain (tanpa EDTA), ditunggu 5-15 menit kemudian di sentrifuse untuk mendapatkan serum.

#### 7. Pengumpulan sampel darah dan pemeriksaan kolesterol

Darah yang sudah dimasukkan ke tabung reaksi akan disentrifuse selama 10 menit untuk memisahkan serum. Serum darah yang sudah didapatkan kemudian dibekukan dan dikirim untuk dilakukan pemeriksaan kolesterol dengan metode CHOD PAP. Pada proses pengukuran ini darah yang diperoleh didiamkan selama 10-15 menit kemudian di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Kemudian serum yang dihasilkan dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakan di tabung.

Prosedur analisis yaitu sampel atau standar diambil sebanyak 10  $\mu$ l dan dicampurkan dengan 1000  $\mu$ l pereaksi kit (mengandung kolesterol esterase, kolesterol oksidase, fenol, 4-aminoantipyrine, peroksidase dan bufer) 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.

#### 8. Pemberian minuman sari brokoli terfortifikasi serat inulin

Serat inulin dari minuman brokoli terfortifikasi diberikan 1 kali 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.

9. Pemberian *Food Recall* dan Kuesioner Aktivitas Fisik serta penjelasan cara pengisian

Untuk meminimalisir bias karena pengaruh dari asupan makanan responden sehari-hari yang saling berbeda satu sama lain dan aktivitas fisik yang tidak homogen, maka responden juga diminta mengisi food recall dan kuesioner aktivitas fisik.

10. Pengambilan sampel darah responden setelah hari ke 28

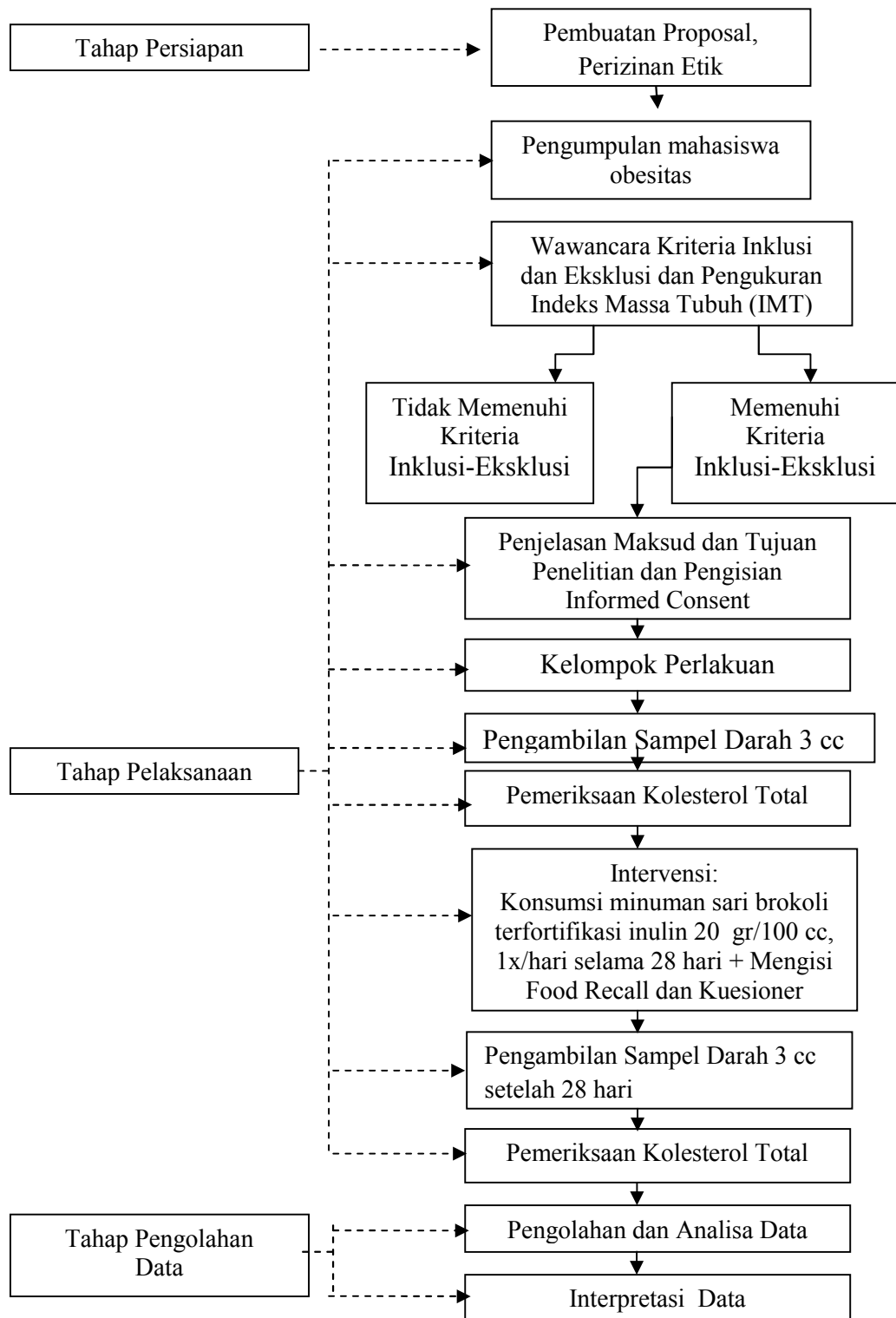
Pengambilan sampel darah setelah hari ke 28 merupakan *post-test* dalam penelitian ini. Sampel darah responden diambil dari vena mediana cubiti dengan spuit (jarum suntik) sebanyak 3 cc. Darah kemudian dimasukkan ke vacuntainer Plain, lalu disentrifugasi dan diambil serum darah sebanyak 0,5 ml.

11. Pengumpulan serum sampel darah dan pemeriksaan kolesterol total dengan metode direk setelah 28 hari perlakuan.

Setelah didapatkan serum dari responden, serum darah disimpan di lemari pendingin terlebih dahulu sebelum dikirimkan ke laboratorium untuk diperiksa dengan Autochemical analyzer dengan metode CHOD-PAP dengan prosedur analisis seperti yang telah dijelaskan di poin 7.

### 3.6.2 Alur Penelitian

Prosedur penelitian di atas dapat dijabarkan dalam alur berikut:



Gambar 7. Alur Penelitian

### 3.7 Rencana Pengolahan dan Analisis Data

#### 3.7.1 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.

#### 3.7.2 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. Analisa univariat ini akan menentukan distribusi dari jenis kelamin responden, IMT responden, rerata

kolesterol total sebelum dan rerata kolesterol total sesudah dilakukan pemberian minuman sari brokoli terfortifikasi serat inulin.

#### b. Analisa Bivariat

Analisa bivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat dengan menggunakan uji statistik. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut (Dahlan, 2014):

##### 1. Uji normalitas data

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran distribusi suatu data apakah normal atau tidak. Uji normalitas data yang digunakan berupa *uji Shapiro-Wilk* dikarenakan besar sampel  $\leq 50$  (35 sampel). Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk p dan diasumsikan normal. Jika nilainya di atas 0,05 maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas, dan jika nilainya di bawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak normal.

##### 2. Uji Parametri (*T-Paired*)

Pengujian parametrik dilakukan untuk menguji perbedaan rerata kadar kolesterol serum sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (intervensi dengan konsumsi serat inulin). Uji T berpasangan dilakukan karena penelitian ini berupa komparatif numerik dua kelompok berpasangan. Bila tidak memenuhi syarat uji parametrik

(data tidak terdistribusi normal) digunakan uji nonparametrik yaitu *Wilcoxon*.

### **3.8 Etik Penelitian**

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan dikeluarkannya keterangan lolos uji etik (*Ethical Approval*) No: 1984/UN26/8/DT/2015.