

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental design*. *True experimental design* merupakan desain penelitian yang mampu mengendalikan seluruh variabel luar yang dapat memengaruhi proses eksperimen. Penelitian dengan desain *true experimental* bertujuan mengidentifikasi hubungan kausal antara dua variabel atau lebih melalui percobaan yang dilakukan secara teliti (Sugiyono, 2011). Rancangan penelitian menggunakan *pretest-posttest control group design*.

Rancangan penelitian menggunakan *pretest-posttest control group design* yang dibagi menjadi kelompok kontrol negatif yaitu K (-) (lansia obesitas yang tidak diberikan perlakuan/tidak diberikan diet teh), kelompok kontrol positif yaitu K (+) (lansia obesitas yang diberikan perlakuan konsumsi teh hitam merek lain) dan kelompok perlakuan yaitu P1 (lansia obesitas yang diberikan perlakuan konsumsi teh POVIATEA). Masing-masing kelompok akan dilakukan pemeriksaan kadar TNF- α sebanyak 2 kali yaitu pada minggu pertama sebelum perlakuan dan 30 hari setelah perlakuan. Kelompok kontrol merupakan kelompok yang tidak menerima perlakuan dan kelompok yang mendapat perlakuan disebut kelompok eksperimen (Sugiyono, 2011).

Rancangan penelitian *pretest-posttest control group design* yang digunakan dapat dilihat pada tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3
Rancangan Penelitian

R ₁	O ₁	X	O ₂
R ₂	O ₃		O ₄

Keterangan

R₁ : Kelompok eksperimen

R₂ : Kelompok kontrol

X : Perlakuan

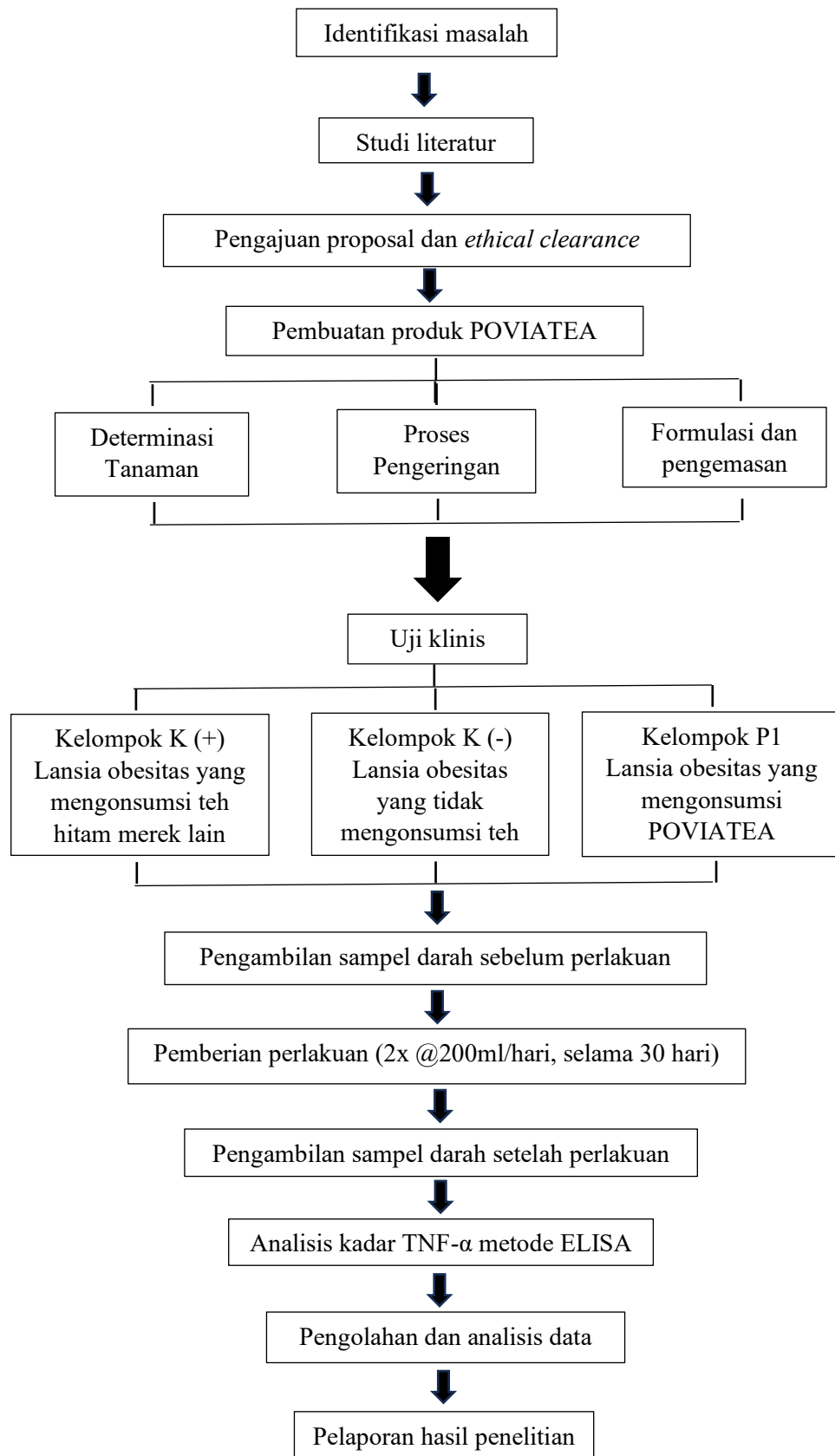
O₁ : Hasil pre test kelompok eksperimen

O₂ : Hasil post test kelompok eksperimen

O₃ : Hasil pre test kelompok kontrol

O₄ : Hasil post test kelompok kontrol

B. Alur Penelitian



Gambar 5 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pembuatan POVIATEA dilaksanakan di Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat (P4TO). Pemeriksaan kadar TNF- α dilakukan di laboratorium Imunologi Poltekkes Kemenkes Denpasar. Pengukuran indeks masa tubuh (IMT) dan pendataan sampel dilakukan di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2025.

D. Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis adalah satuan yang digunakan sebagai objek dalam suatu penelitian. Unit analisis pada penelitian ini yaitu hasil uji kadar TNF- α .

2. Subjek penelitian

Subjek penelitian pada penelitian ini adalah masyarakat lansia (lanjut usia) yang berada di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung.

3. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah serum masyarakat lansia obesitas yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

4. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah produk POVIATEA dan teh hitam merek lain yang kemudian diujikan pada lansia obesitas.

5. Jumlah dan besar sampel

Penentuan jumlah sampel dilakukan dengan membagi jumlah 96 well pada Kit ELISA. Besar sampel keseluruhan sebanyak 39 sampel yang dibagi menjadi 3 kelompok dengan setiap kelompok sebanyak 13 sampel. Sampel pada masing-masing kelompok dilakukan analisis menggunakan ELISA sebanyak 2 kali yaitu sebelum dan sesudah perlakuan.

6. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel menggunakan *nonprobability sampling* dengan teknik *purposive sampling*. Teknik *nonprobability sampling* merupakan metode pengambilan sampel di mana setiap elemen tidak memiliki peluang yang sama untuk terpilih sebagai sampel. Teknik *purposive sampling* dilakukan dengan memilih sampel berdasarkan pertimbangan khusus yang telah ditetapkan sebelumnya. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi dalam penentuan sampel pada penelitian ini.

a. Kriteria inklusi

- 1) Subjek bersedia untuk menjadi responden serta menandatangani *informed consent* dan diberikan edukasi mengenai produk POVIATEA.
- 2) Lansia yang berusia 50-80 tahun.
- 3) Memiliki IMT Obesitas Tipe I, yaitu 25-29,9 kg/m².
- 4) Berjenis kelamin laki-laki dan perempuan.
- 5) Responden tidak sedang mengonsumsi suplemen dan obat-obatan (penurun berat badan, penurun kolesterol, penambah hormon, obat diuretik) sekurang-sekurangnya 2 minggu sebelum penelitian.
- 6) Responden bukan dalam program diet.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Instruktur senam atau atlet.
- 2) Mengonsumsi alkohol dan merokok
- 3) Mengonsumsi teh atau ekstrak teh secara rutin.

7. Prosedur kerja

a. Persiapan simplisia

1) Alat dan bahan

Alat yang digunakan diantaranya pisau, baskom, blender, neraca analitik dan oven. Bahan yang diperlukan diantaranya kulit jeruk bali dan daun stevia.

2) Prosedur kerja

Sebanyak 2,5 kg kulit jeruk bali dan 1,5 kg daun stevia dibersihkan menggunakan air mengalir lalu diangin-anginkan agar tidak basah. Selanjutnya, dipotong-potong menjadi ukuran kecil-kecil lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Kemudian, simplisia dihaluskan menggunakan blender dan bisa disimpan dalam wadah yang kering dan bersih.

b. Pembuatan POVIATEA

1) Alat dan bahan

Alat yang digunakan diantaranya spatula, aluminium foil, neraca analitik dan hotplate. Bahan yang digunakan diantaranya simplisia kulit jeruk bali, simplisia daun stevia, dan kantong teh.

2) Prosedur kerja

Formulasi pembuatan produk POVIATEA dibuat dengan menggunakan perbandingan serbuk kulit jeruk bali dan daun stevia yaitu 1:3 dengan 1 kantong teh sediaan produk POVIATEA berisi 0,5 gram serbuk kulit jeruk bali + 1,5 gram

serbuk daun stevia. Lalu, seduh POVIATEA dengan 200 ml air suhu 70°C selama 10 menit.

c. Uji klinis

1) Alat dan bahan

Alat yang digunakan diantaranya timbangan, stature meter, dan form observasi.

Bahan yang digunakan diantaranya POVIATEA dan teh hitam merek lain.

2) Prosedur kerja

Lansia dengan obesitas terlebih dahulu diukur indeks masa tubuhnya untuk memenuhi kriteri inklusi. Lansia obesitas yang telah dipilih sebanyak 39 orang diberikan edukasi sebelum pemberian perlakuan diet teh hitam merek lain dan POVIATEA. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok K (-) 13 orang lansia dengan obesitas yang tidak diberikan diet POVIATEA, kelompok P1 13 orang lansia dengan obesitas yang diberikan diet POVIATEA, dan kelompok K (+), 13 orang lansia dengan obesitas yang diberikan diet teh hitam merek lain.

Pada minggu pertama lansia dengan obesitas pada setiap kelompok dilakukan persiapan pengambilan darah vena sebelum diberikan perlakuan. Selanjutnya, kelompok perlakuan diberikan dosis konsumsi teh hitam merek lain dan POVIATEA sebanyak 2 gram dalam 200 ml setiap 2x sehari dalam 30 hari yang dikonsumsi 2 jam setelah makan. Selama perlakuan dilakukan pemantauan secara berkala mengenai pola makan dan konsumsi teh. Setelah mengonsumsi secara rutin teh hitam merek lain dan POVIATEA selama 4 minggu maka dilanjutkan dengan pengambilan sampel darah setelah 30 hari. Sampel darah kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan

serum. Lalu serum ditampung pada microtube, diberi label dan disimpan pada suhu -20°C .

d. Pemeriksaan kadar TNF- α metode ELISA

1) Alat dan bahan

Alat yang digunakan diantaranya mikropipet, ELISA *reader*, Kit ELISA Human TNF- α Cat No. E0082Hu (BT Lab), beaker glass. Bahan yang digunakan diantaranya serum lansia obesitas, yellow tip, aquades steril, buffer.

2) Prosedur kerja

Serum darah yang telah didapatkan dari setiap kelompok perlakuan diberikan label dan identitas sampel dengan lengkap. Pastikan dalam pengujian ini reagen, larutan standar, dan sampel sudah disiapkan. Dilakukan penambahan standar 20 μl ke sumur standar yang telah mengandung antibodi terbiotinilasi. Kemudian tambahkan 40 μl sampel ke sumur sampel dan tambahkan (10 μl antibodi TNF- α) ke dalam sumur sampel dan selanjutnya ditambahkan 50 μl *streptavidin*-HRP ke dalam sumur standar lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C . Lepaskan *sealer* dan lakukan pencucian sebanyak 5x dengan *wash buffer* sebanyak 300 μl selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Dilanjutkan dengan penambahan 500 μl larutan substrat A dan 500 μl larutan substrat B ke setiap sumur. Inkubasi plate dengan menggunakan *sealer* selama 10 menit pada suhu 37°C dalam tempat gelap. Selanjutnya dilakukan penambahan 50 μl *stop solution* ke masing-masing sumuran (warna biru akan segera berubah menjadi kuning). Tahapan terakhir yakni dengan melakukan pembacaan *optical density* (nilai OD) pada setiap sumur dengan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm tidak lebih dari 10 menit.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

a. Data primer

Data primer adalah jenis data yang didapatkan secara langsung selama proses pengambilan data. Data primer dalam penelitian ini adalah hasil uji kadar TNF- α .

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang tidak dikumpulkan langsung selama penelitian, melainkan sudah tersedia sebelumnya dan diperoleh dari berbagai sumber. Data sekunder pada penelitian ini adalah data yang didapatkan dari sumber artikel, jurnal, dan buku yang diakses melalui internet.

2. Cara pengumpulan data

Pada penelitian ini, teknik pengumpulan data menggunakan observasi dan wawancara. Teknik pengumpulan data observasi dilakukan pada saat melakukan pendataan sampel saat menghitung indeks masa tubuh (IMT), pemantauan penelitian selama pemberian perlakuan diet teh, dan pemeriksaan serta pembacaan hasil uji laboratorium. Teknik pengumpulan data wawancara dilaksanakan dengan memberikan pertanyaan secara langsung kepada subjek lansia obesitas (sampel) mengenai kondisi tubuh, konsumsi makanan dan obat-obatan serta pertanyaan lainnya untuk menentukan apakah sampel memasuki kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan.

3. Instrumen pengumpul data

- a. Formulir wawancara digunakan untuk mencatat data sampel seperti identitas sampel.

- b. Lembar observasi digunakan untuk mencatat hasil pemeriksaan uji laboratorium, pengukuran indeks masa tubuh (IMT), dan hasil pengamatan di laboratorium.
- c. Laptop digunakan untuk mengumpulkan data penelitian pada program seperti *microsoft excel*.
- d. Handphone digunakan untuk mendokumentasikan hasil uji pemeriksaan dan pengamatan di laboratorium.
- e. Timbangan dan stature meter, digunakan untuk mengukur berat badan dan tinggi badan untuk mengetahui indeks masa tubuh (IMT).
- f. Peralatan laboratorium, digunakan untuk mendapatkan data penelitian seperti ELISA reader dan alat-alat gelas kimia.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data adalah proses mengatur dan menyusun data sehingga dapat dianalisis dengan lebih efektif. Tahapan dalam pengolahan data hasil penelitian, yaitu:

- a. *Editing* (pemeriksaan data) bertujuan memverifikasi keakuratan data yang dikumpulkan serta memastikan kesesuaiannya dengan tujuan penelitian.
- b. *Coding* (pemberian kode) bertujuan untuk menandai setiap hasil penelitian agar lebih mudah dianalisis.
- c. *Entry* (pemasukkan data) dengan mengumpulkan form observasi, form pencatatan data hasil uji laboratorium dan pengumpulan dokumentasi penelitian.

- d. Tabulasi (penyajian data) berupa nilai OD biomarker inflamasi TNF- α metode ELISA.

2. Analisis data

Data dianalisis dengan statistik inferensial dengan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel yang digunakan ≤ 50 sampel. Uji normalitas dilakukan untuk menentukan apakah distribusi data dalam suatu kelompok atau variabel mengikuti pola distribusi normal atau tidak. Data berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0.05 ($p > 0.05$) maka dapat dilanjutkan ke uji *parametris*. Data tidak berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih kecil dari 0.05 ($p < 0.05$) maka dapat dilanjutkan ke uji *nonparametris*.

Apabila data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *parametris* menggunakan uji *paired T-test*. Uji *Paired T-Test* termasuk dalam uji hipotesis komparatif atau uji perbandingan. Uji ini menggunakan data dengan skala interval atau rasio (data kuantitatif). Tujuan dari uji *Paired T-Test* adalah untuk menentukan apakah terdapat perbedaan rata-rata antara dua sampel yang berpasangan atau memiliki hubungan satu sama lain. Sedangkan, apabila data tidak berdistribusi normal maka data dianalisis dengan uji *nonparametris*, yaitu Uji *Wilcoxon*.

G. Etika Penelitian

1. Prinsip etik

Secara umum, penelitian kesehatan yang melibatkan manusia sebagai subjek harus berlandaskan pada tiga prinsip etika yang telah disepakati dan diakui secara moral, sehingga penelitian tersebut dapat dipertanggungjawabkan baik dari segi

etika maupun hukum. Adapun tiga prinsip etik dasar tersebut menurut (Komisi Etik Penelitian Kemenkes RI, 2021):

a. *Respect for persons*

Prinsip ini menegaskan pentingnya menghormati martabat setiap individu sebagai makhluk yang bebas dalam mengambil keputusan dan bertanggung jawab atas pilihannya. Selain itu, prinsip ini juga memberikan perlindungan khusus bagi mereka yang memiliki keterbatasan otonomi, termasuk individu yang bergantung pada orang lain atau berada dalam kondisi rentan, untuk mencegah risiko kerugian atau penyalahgunaan

b. *Beneficence dan non-maleficence*

Prinsip etika *beneficence* berkaitan dengan kewajiban untuk menolong orang lain dengan meminimalkan kerugian dan memaksimalkan manfaat. Partisipasi manusia dalam penelitian kesehatan bertujuan untuk mencapai hasil penelitian yang bermanfaat dan bisa diimplementasikan secara tepat pada manusia

c. *Justice*

Prinsip ini berkaitan dengan kewajiban moral untuk memperlakukan individu secara setara sebagai pribadi yang otonom, dengan memastikan bahwa mereka mendapatkan haknya secara adil dan layak. Prinsip ini mengharuskan adanya pembagian yang merata antara keuntungan dan tanggung jawab yang diterima oleh subjek penelitian, sesuai dengan konsep keadilan distributif. Dalam penerapannya, aspek seperti usia, gender, budaya, latar belakang etnis, dan status ekonomi perlu dipertimbangkan.