

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Metode penelitian yang akan digunakan adalah jenis penelitian kuantitatif yaitu *true-experimental design*. Metode ini dipilih karena selain kelompok yang diberi perlakuan, terdapat juga kelompok kontrol pada penelitian ini. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *pretest-posttest control group design*. Penelitian ini bertujuan untuk menilai dampak dari suatu intervensi pada kelompok eksperimental yang menerima perlakuan. Keunggulan dari desain penelitian ini adalah kemampuannya untuk memberikan perbandingan antara kelompok yang menerima perlakuan, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol tanpa perlakuan (kontrol negatif) (Sugiyono, 2019; Arib dkk., 2024).

Tabel 2
Desain Penelitian *Pretest-posttest Control Group Design*

Kelompok	Pretest	Perlakuan	Posttest
Kelompok POVIATEA	O1	X1	O2
Kelompok Kontrol Positif	O3	X2	O4
Kelompok Kontrol Negatif	O5	X3	O6

Keterangan :

O1 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada lansia dengan obesitas sebelum perlakuan.

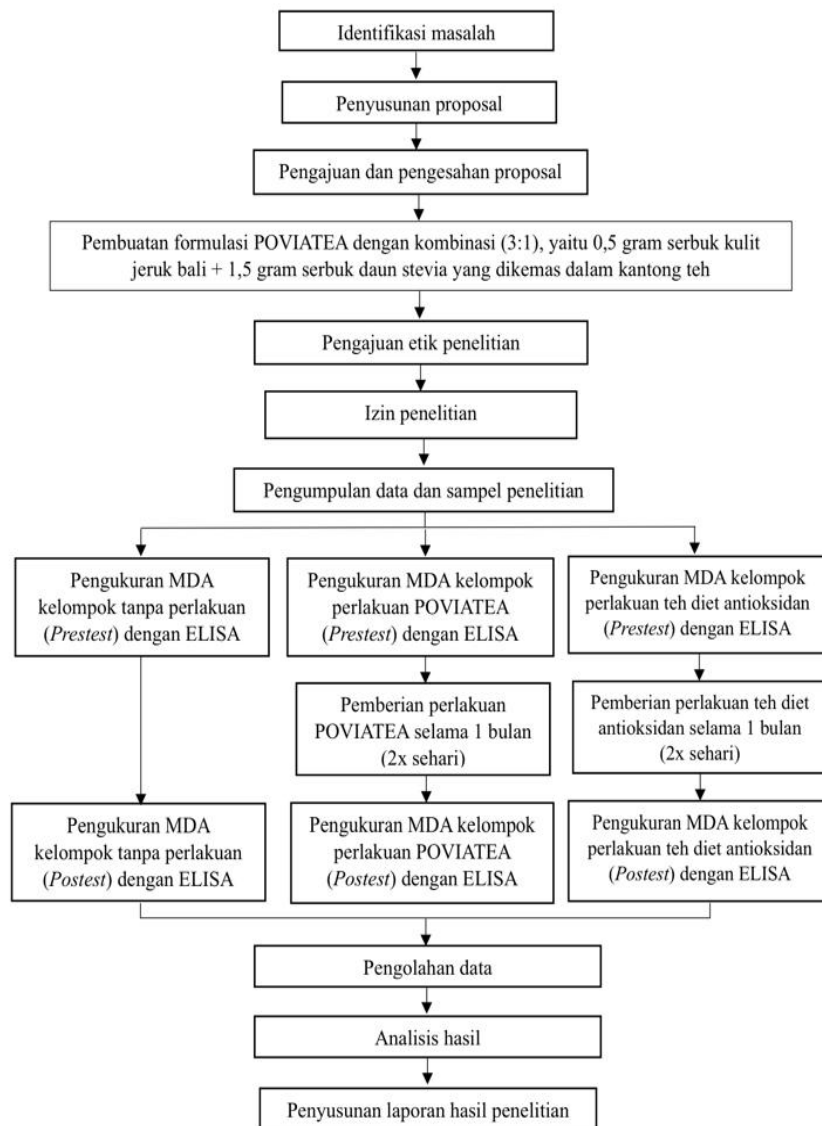
X1 : Pemberian perlakuan POVIATEA selama 1 bulan.

O2 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada lansia dengan obesitas setelah 1 bulan perlakuan / konsumsi POVIATEA.

O3 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada kelompok kontrol sebelum konsumsi teh diet antioksidan.

- X2 : Pemberian teh diet antioksidan selama 1 bulan
- O4 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada kelompok kontrol setelah konsumsi teh diet antioksidan.
- O5 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada kelompok kontrol air minum.
- X3 : Kontrol dengan diberikan air minum sebagai pengganti POVIATEA dan teh diet antioksidan
- O6 : Pengukuran kadar Malondialdehid pada kelompok kontrol minum air minum selama 1 bulan (sebagai pengganti POVIATEA).

B. Alur Penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali, dan Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat (P4TO) Karangasem Provinsi Bali, serta Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2024 sampai April 2025

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini yaitu hasil pengukuran kadar MDA Malondialdehid (MDA) pada serum darah lansia obesitas di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung.

2. Populasi

Populasi adalah kumpulan objek atau individu yang memiliki jumlah dan ciri-ciri khusus yang telah ditetapkan oleh peneliti sebagai sasaran studi, sehingga hasil analisisnya dapat digunakan untuk mengambil kesimpulan. Populasi bisa terdiri atas individu, organisme, objek, subjek, peristiwa, maupun situasi yang menjadi sumber data serta informasi yang berkaitan dengan permasalahan penelitian (Sugiyono, 2019; Nashrullah dkk., 2023). Subjek Penelitian pada penelitian ini adalah masyarakat lansia (lanjut usia) dengan obesitas yang tinggal di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung.

3. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian dari populasi lansia obesitas yang tinggal di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung yang ditentukan secara spesifik berdasarkan rumus besar sampel dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4. Jumlah dan besar sampel

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini didasarkan pada rumus Federer, yaitu: $(n-1)(t-1) \geq 15$, dengan n mewakili jumlah sampel per kelompok dan t menunjukkan jumlah kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini, terdapat tiga kelompok perlakuan yang digunakan sebagai dasar perhitungan sampel sehingga banyak sampel yang dibutuhkan yaitu:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$n \geq 17/2$$

$$n \geq 8,5 \text{ dibulatkan menjadi } 9$$

Menghitung antisipasi atau sampel drop out sebanyak 10% ($d = 0,1$) dari sampel yang dihitung, dengan rumus berikut

$$N_{final} = \frac{n}{1-d}$$

$$N_{final} = \frac{9}{1-0,1}$$

$$N_{final} = \frac{9}{0,9} = 10$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka besar sampel di masing-masing kelompok adalah minimal 9 dan cadangan 1. Pada penelitian ini jika disesuaikan juga dengan jumlah kit pemeriksaan maka besar sampel yang digunakan pada masing – masing kelompok adalah sebanyak 12 sampel ditambah 1 cadangan, sehingga besar sampel keseluruhannya adalah 13 x 3 kelompok maka sampel atau subjek yang dibutuhkan adalah sebanyak 39 sampel lansia obesitas.

5. Teknik pengambilan sampel

Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik non-probability sampling, dengan pendekatan purposive sampling. Teknik ini melibatkan pemilihan sampel berdasarkan tujuan dan pertimbangan khusus dari peneliti, sehingga dapat memastikan tercapainya tujuan penelitian (Sugiyono, 2019). Adapun kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini.

a. Kriteria inklusi :

- 1) Subjek penelitian merupakan lansia obesitas dengan tipe I dan II di Desa Ayunan, Kecamatan Abiansema, Kabupaten Badung.
- 2) Subjek bersedia untuk menjadi responden serta menandatangani *informed consent*.
- 3) Responden tidak sedang mengonsumsi obat – obatan dan suplemen (penurun berat badan, penurun kolesterol, penambah hormon, obat diuretik)
- 4) Responden tidak sedang menjalani program diet

b. Kriteria eksklusinya

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

6. Alat dan bahan

a. Alat

- 1) Pembuatan produk POVIATEA seperti; oven, blender, neraca analitik, sendok atau spatula.
- 2) Pengukuran IMT : timbangan berat badan dan alat pengukuran tinggi badan.
- 3) Pengambilan sampel darah untuk mendapatkan serum, yaitu ; *vacutainer* tanpa antikoagulan, *holder*, jarum *vacutainer*, *torniquet*, *sentrifuge*, tempat sampah medis, dan *safety box*
- 4) Deteksi kadar MDA metode ELISA, yaitu ; Flex A-200 ELISA *Microplate Reader*, inkubator 37°C, rotator, dan mikropipet.

b. Bahan atau materi

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain: *yellow tip*, *white tip*, *blue tip*, *tissue*, kapas, *alcohol swab*, plester, dan aquades steril, kulit jeruk bali, daun stevia, kantong teh, kemasan teh, teh diet antioksidan, dan Kit ELISA *Human Malondialdehyde* Cat No. E137Hu (BT Lab)

7. Prosedur kerja

a. Persiapan simplisia

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. Setelah kering simplisia kemudian dihaluskan menggunakan blender dan bisa disimpan dalam wadah yang kering dan bersih.

b. Pembuatan produk POVIATEA

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, panaskan air 200 ml hingga mendidih ($\pm 100^{\circ}\text{C}$) dan didiamkan hingga hangat. Setelah itu, seduh POVIATEA dengan 200 ml air yang sudah hangat tersebut.

c. Uji klinis

Lansia dengan obesitas terlebih dahulu diukur indeks masa tubuhnya untuk memenuhi kriteria inklusi. Lansia obesitas yang telah dipilih sebanyak 39 orang diberikan edukasi sebelum pemberian perlakuan. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok P1 untuk 13 orang lansia dengan obesitas yang diberikan diet POVIATEA. Kelompok K1 untuk 13 orang lansia dengan obesitas yang diberikan teh diet antioksidan. Kelompok K2 untuk 13 orang lansia dengan obesitas yang tidak diberikan apa – apa (diganti dengan air minum). Pada minggu pertama lansia dengan obesitas pada setiap kelompok dilakukan persiapan pengambilan darah vena sebelum diberikan perlakuan konsumsi POVIATEA dan teh diet antioksidan. Selanjutnya, kelompok perlakuan diberikan dosis konsumsi POVIATEA dan teh diet antioksidan sebanyak 2 gram dalam 200 ml setiap 2x sehari dalam 4 minggu yang dikonsumsi 2 jam setelah makan. Selama perlakuan dilakukan pemantauan secara berkala mengenai pola makan dan konsumsi teh. Setelah mengonsumsi secara rutin POVIATEA dan teh diet antioksidan selama 4 minggu maka dilanjutkan dengan pengambilan sampel darah pada minggu terakhir. Sampel darah kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama

15 menit untuk mendapatkan serum. Lalu serum ditampung pada microtube dan diberi label.

d. Analisis kadar MDA dengan metode ELISA

Serum darah yang sudah didapatkan pada setiap kelompok perlakuan diberikan label dan identitas reponden dengan lengkap. Pastikan sebelum pengujian dilakukan seluruh reagen, larutan standar, dan sampel sudah berada pada suhu kamar untuk mengoptimalkan ikatan reaksi yang terjadi. Standar dibuat sebagai berikut:

Tabel 3
Konsentrasi Reagen Standar

Konsentrasi (mmol/mL)	Kode Standar	Komposisi
40	Standar No.5	120 µl Standar + Pengencer Standar 120 µl
20	Standar No.4	120 µl Standar No.5 + Pengencer Standar 120 µl
10	Standar No.3	120 µl Standar No.4 + Pengencer Standar 120 µl
5	Standar No.2	120 µl Standar No.3 + Pengencer Standar 120 µl
2,5	Standar No.1	120 µl Standar No.2 + Pengencer Standar 120 µl

Kemudian siapkan 46 *well* pada *plate*, yaitu 6 *well* untuk standar, 1 *well* untuk blanko, dan 39 *well* untuk sampel. Dilakukan penambahan 50 µl standar ke *well* standar dengan antibodi biotinilasi, kemudian dilakukan penambahan 40 µl sampel ke *well* sampel. Tambahkan 10 µl antibodi (anti-MDA) ke *well* sampel. Ditambahkan 50 µl *streptavidin*-HRP ke dalam *well* sampel dan *well* standar kemudian homogenkan dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C serta tutup dengan *sealer*. Selanjutnya, dilakukan tahap pencucian sebanyak 5x dengan *wash buffer*. Tambahkan 50 µl larutan substrat A dan 50 µl larutan substrat B ke setiap

well lalu inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam suasana gelap. Selanjutnya dilakukan penambahan 50 µl *stop solution* ke masing-masing *well* (warna biru akan segera berubah menjadi kuning). Tahapan terakhir yakni dengan melakukan pembacaan densitas optik (nilai OD) pada setiap *well* dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan *stop solution*.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer merupakan data yang berasal langsung dari objek yang diperiksa. Sumber primer adalah sumber data yang memberikan data secara langsung kepada pengumpul data (Sugiyono, 2019). Pada penelitian ini data primer yang dikumpulkan secara langsung oleh peneliti dari individu di lapangan adalah data hasil pengukuran IMT, dan data hasil pengukuran kadar MDA.

b. Data sekunder

Sumber data sekunder adalah sumber yang tidak memberikan data secara langsung kepada pengumpul data, melainkan melalui perantara seperti orang lain atau dokumen (Sugiyono, 2019). Dalam penelitian ini, data sekunder diperoleh dari kajian pustaka yang meliputi buku, jurnal, karya ilmiah, serta hasil survei kesehatan Indonesia.

2. Cara pengumpulan data

Teknik pengumpulan data merupakan suatu teknik atau metode yang digunakan untuk mengumpulkan data penelitian oleh peneliti. Data penelitian yang didapat terdiri dari data primer dan data sekunder. Data primer diperoleh dengan

cara wawancara dan observasi. 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 dilakukan dengan mengajukan pertanyaan secara langsung kepada subjek lansia obesitas mengenai kondisi tubuh, konsumsi makanan dan obat-obatan serta pertanyaan lainnya untuk menentukan apakah sampel memasuki kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Sedangkan data sekunder yang dikumpulkan bersumber dari pengembangan penelitian sebelumnya dan studi literatur terkait senyawa aktif pada kulit jeruk bali dan daun stevia, stress oksidatif, MDA, serta ELISA.

3. Instrumen pengumpulan data

Adapun instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data pada penelitian ini :

- a. Formulir wawancara, digunakan untuk mencatat data subjek penelitian.
- 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*, dan SPSS.
- 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*.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian diolah dengan langkah sebagai berikut:

- a. *Editing* merupakan tahap penelitian dimana data yang akan diberikan kepada peneliti diperiksa kelengkapannya. Hal ini dilakukan di lokasi pendataan agar apabila ada kekurangan dapat segera diisi.
- b. *Entering* mengacu pada tindakan memasukkan data ke dalam aplikasi statistik komputer untuk diproses.
- c. *Cleaning* adalah kegiatan untuk pengecekan ulang data yang telah di entry untuk mencegah adalah kekeliruan.
- d. *Saving* adalah tindakan penyimpanan data sebelum dan sesudah diproses atau dianalisis.
- e. *Tabulating* terdiri dari penyusunan data menjadi tabel dan kemudian dianalisis dengan aplikasi statistik pada laptop.

2. Analisis data

Analisis data penelitian adalah tahap pengolahan, pemeriksaan, dan interpretasi data yang telah dikumpulkan selama proses penelitian, dengan tujuan untuk menjawab pertanyaan penelitian atau menguji hipotesis yang diajukan. Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola, tren, hubungan antarvariabel, serta membuat kesimpulan yang didukung oleh data. Teknik analisis data yang

digunakan adalah statistik inferensial dengan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).

Analisis data diawali dengan uji normalitas, dengan tujuan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena sampel ≤ 50 . Data terdistribusi normal apabila diperoleh nilai signifikan/kemaknaan (p) $> 0,05$, maka dapat dilanjutkan ke uji *parametris*. Data tidak berdistribusi normal apabila nilai signifikansi (p) $< 0,05$ maka dapat dilanjutkan ke uji *nonparametris*.

Karena hasil dari analisis uji normalitas tidak signifikan, maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik yaitu menggunakan uji *Wilcoxon Signed Rank Test* untuk mengetahui adakah perbedaan rata-rata antara dua sampel sebelum dan setelah perlakuan.

G. Etika Penelitian

Untuk memastikan bahwa hak-hak subjek dihormati, penelitian ini secara khusus menganut prinsip-prinsip etika (Melani dan Hidayat, 2023):

1. Respect for persons

Peneliti menghormati prinsip-prinsip martabat manusia, otonomi individu, dan keberagaman nilai budaya, serta memastikan kerahasiaan peserta penelitian dengan memperoleh persetujuan melalui proses Persetujuan Setelah Penjelasan (PSP).

2. Beneficence

Subjek penelitian tidak mengalami kerugian akibat partisipasinya. Para ahli menyimpulkan bahwa penelitian ini menawarkan potensi manfaat yang lebih besar dibandingkan risikonya. Selain berupaya memaksimalkan manfaat dan mengurangi

risiko, peneliti juga meningkatkan kualitas hasil dengan melakukan tinjauan terhadap penelitian-penelitian sebelumnya.

3. *Justice*

Justice yaitu berlaku adil. Peneliti berlaku adil tanpa membedakan antar subyek penelitian. Semua subyek akan mendapatkan perlakuan yang sama.

4. *Confidentiality*

Confidentiality yaitu menjaga kerahasiaan. Kerahasiaan mengenai pasien harus tetap dijaga agar tidak ada seorangpun yang bisa mengetahui hasil atau informasi pasien terkecuali adanya bukti persetujuan antara pasien dan pihak tersebut.

5. *Fidelity*

Fidelity berarti komitmen. Prinsip ini mengharuskan seseorang untuk mempertahankan kesetiaan terhadap komitmen yang telah dibuat. Oleh karena itu, peneliti berpegang teguh pada janji untuk menjaga kerahasiaan identitas dan informasi pasien.