

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang dipakai adalah non-eksperimental/observasional, peneliti tidak melakukan intervensi terhadap sampel, sedangkan rancangan penelitian yang dilakukan adalah *cross-sectional*. Subyek dalam penelitian dibagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok uji dan kelompok control. Kelompok uji adalah kelompok yang menderita hipotiroid, dan kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak menderita hipotiroid. Masing-masing kelompok diperiksa kadar LDLnya.

##### **B. Populasi dan Sampel Penelitian**

###### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan pada penelitian adalah seluruh ibu menyusui hipotiroid dan non-hipotiroid di daerah endemik GAKY Desa Ngargosoko Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang.

###### **2. Sampel**

Sampel penelitian adalah ibu menyusui yang sesuai kriteria inklusi dan eksklusi.

###### **a. Kriteria Inklusi**

###### **1) Kelompok Sampel**

a) Ibu menyusui usia 15-45 tahun

b) Berpuasa minimal 8 jam sebelum pengambilan darah dilakukan

c) Menderita hipotiroid, tiroksin bebas (*free T4*) yang tidak normal yaitu  $<0,8$  ng/dL

d) Bertempat tinggal di daerah endemik GAKY Desa Ngargosoko Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang

2) Kelompok Kontrol

a) Ibu menyusui usia 15-45 tahun

b) Berpuasa minimal 8 jam sebelum pengambilan darah dilakukan

c) Tidak menderita hipotiroid (non-hipotiroid/ eutiroid), tiroksin bebas (*free T4*) normal yaitu antara 0,8-1,8 ng/dL

d) Bertempat tinggal di daerah endemik GAKY Desa Ngargosoko Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang

b. Kriteria Eksklusi

Ibu menyusui yang menderita penyakit *hyperlipidemia* dan *diabetes mellitus*.

**C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Desa Ngargosoko, Kecamatan Srumbung, Kabupaten Magelang yang merupakan daerah endemik GAKY.

Spesimen diperiksa di laboratorium LPPT Universitas Gajah Mada untuk pemeriksaan LDL dan laboratorium Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pemeriksaan kadar tiroksin (*free T4*). Pemeriksaan kadar tiroksin ini penting dilakukan untuk mengetahui apakah responden dalam kondisi hipotiroid atau non-hipotiroid. Adapun waktu penelitian adalah 8 Juni-29 Juni 2013.

**D. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas (*independent variable*)

Ibu menyusui hipotiroid

2. Variabel Tergantung (*dependent variable*)

Kadar LDL serum

3. Variabel Perancu Terkendali

Asupan makanan sebelum pengambilan darah

**E. Definisi Operasional**

1. Kondisi hipotiroid ditegakan dengan mengukur kadar tiroksin (*free T4*).

Dimana terjadi penurunan kadar *free T4* dalam plasma pada hipotiroid. Kadar *T4* normal adalah 0,8-1,8 ng/dL (LPPT UGM, 2013). Kondisi hipotiroid apabila kadar *free T4* <0,8 ng/dL.

2. Kondisi non-hipotiroid adalah kondisi eutiroid dimana kadar tiroksin (*free T4*) dalam batas normal yaitu 0,8-1,8 ng/dL.

3. Kadar LDL adalah pengukuran kadar LDL serum yang diukur secara enzimatik dengan spektrofotometer, skala rasio. Kadar LDL serum :

- a. Normal : < 130 mg/dL
- b. Border line : 130 - 159 mg/dL
- c. Tinggi :  $\geq$  160 mg/ dL

(Horrison, 2007)

4. Daerah endemik GAKY adalah kawasan dimana konsumsi yodium penduduknya rata-rata tidak mencukupi kebutuhan tubuh, sehingga menyebabkan munculnya hipotiroidisme (Djokomoeljanto, 2006)

**F. Alat dan Bahan Penelitian**

1. Alat

spektrofotometer, *centrifuge*, tabung reaksi, pipet, tabung ependorf yang sudah di beri EDTA, rak ependorf, spuit injeksi, *handschoen*, kapas steril dan alkohol

## 2. Bahan yang Diperiksa

Bahan yang diperiksa adalah darah vena kurang lebih 5cc diambil menggunakan spuit injeksi melalui vena mediana cubiti yang kemudian di-*centrifuge* dan diambil serumnya. Larutan standar untuk reagen.

## G. Cara Pengumpulan Data

1. Diambil sampel serum ibu menyusui di daerah endemik GAKY Desa Ngargosoko Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang. Penentuan sampel dengan memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi seperti tersebut di atas.
2. Serum ibu menyusui di kirim ke Laboratorium Universitas Yogyakarta untuk pemeriksaan kadar tiroksin bebas (*free T4*) dan di kirim ke Laboratorium LPPT Universitas Gajah Mada untuk pemeriksaan kadar LDL serum.
3. Setelah diketahui kadar tiroksin bebas (*free T4*) kemudian subjek dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok hipotiroid untuk kadar *free T4* rendah dan kelompok non-hipotiroid untuk kadar *free T4* normal.
4. Teknik pemeriksaan dan penghitungan kadar LDL dengan cara:  
Pemeriksaan enzimatik dengan metode CHOD-PAP untuk pengukuran kadar LDL.

Kolesterol

Metode : CHOD PAP, Fotometrik Enzimatik

- a. Blanko Akuades 10 ul
- b. Standard 200 mg/dl 10 ul
- c. Sampel serum/plasma 10 ul
- d. Ditambahkan Reagent 1000 ul
- e. Campur masing-masing hingga homogen
- f. Inkubasi pada suhu kamar (RT) (24-30°C) selama 20 menit
- g. Pengukuran: Photometer Microlab 300, Panjang gelombang ( $\lambda$ ) 546 nm,  
Metode: end point
- h. Perhitungan kadar (sudah *automatic* pada Microlab 300)

$$\text{Kadar Kolesterol Total} = \frac{\text{Abs sampel}}{\text{Abs standart}} \times \text{konsentrasi standart}(200\text{mg/dL})$$

Abs = Absorbansi

LDL

Presipitasi

- a. Serum 50 ul
- b. Ditambahkan larutan pengendap HDL (*Presipitant*) 500 ul
- c. Campur dengan baik, inkubasi pada suhu kamar 15 menit
- d. Disentrifuse 12000 rpm 2 menit
- e. Supernatant diukur dengan reagen kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol (HDL) pada supernatant

- a. Dibuat Sediaan :
  - 1) Supernatan (hasil presipitasi HDL) 100 ul,
  - 2) Akuadest (blank) 100 ul
  - 3) *Standard cholesterol* 10 ul

- b. Ditambahkan masing-masing 1000 ul reagent kolesterol
- c. Dicampur dengan baik sampai homogen
- d. Diinkubasi pada suhu kamar 10 menit
- e. Pengukuran Photometer Microlab 300
  - 1) Panjang gelombang ( $\lambda$ ) 546 nm,
  - 2) Mode: *end point*
  - 3) Blank, reagent, Standart, sampel

Perhitungan untuk :

$$\text{Kadar kolesterol supernatant} = \frac{\text{Abs sampel}}{\text{Abs standart}} \times \text{konsentrasi standart (200mg/dl)}$$

Perhitungan LDL = Kolesterol Total – Kolesterol supernatant (presipitasi)

5. Setelah mengetahui kadar LDL kedua kelompok (hipotiroid sebagai sampel dan non-hipotiroid sebagai kontrol) kemudian dibandingkan kadar LDL antara kedua kelompok tersebut.

#### **H. Analisis Data**

Data hasil pengukuran kadar LDL serum dianalisis dengan uji Independent Sampel *T-Test* jika persebaran kedua kelompok data normal atau menggunakan uji *Mann Whitney Test* jika persebaran kedua kelompok data tidak normal. Analisis data ini menggunakan seperangkat program komputer yang bertujuan mengetahui perbedaan kadar LDL Serum pada ibu menyusui Hipotiroid dan Non-Hipotiroid di daerah endemik GAKY Desa Ngargosoko Kecamatan Srumbung Kabupaten Magelang.

## **I. Etik Penelitian**

1. Meminta *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan surat pengantar yang akan ditujukan ke Puskesmas dan Posyandu Kecamatan Srumbung, serta ke Dinas Kesehatan Kabupaten Magelang sebelum melakukan penelitian.
2. Setelah dilakukan sosialisasi oleh pakar di bidang kesehatan mengenai penelitian ini, selanjutnya peneliti meminta persetujuan responden (*informed consent*).
3. Semua informasi dan data dalam penelitian ini hanya dipakai untuk keperluan ilmiah sehingga kode dan identitas responden dijamin kerahasiaannya.