

BAB IV

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

4.1.1 Lokasi Penelitian

Penelitian pendahuluan (tahap I) dilakukan tahun 2013 di RS Ortopedi Prof Dr R Soeharso dengan mengukur intensitas latihan 12 peserta latihan tari poco-poco. Pelaksanaan penelitian (tahap II) latihan tari poco-poco dan senam jantung sehat dilakukan di lapangan kampus UNS, Manahan dan lapangan di kelurahan Baluwarti, Surakarta. Pengambilan sampel darah dilakukan di tepi lapangan tempat latihan karena pengambilan sampel darah harus segera setelah latihan (< 72 jam) dan memudahkan pengambilan sampel karena naracoba tidak harus datang ke laboratorium. Pengolahan sampel dan interpretasi dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia Jakarta.

4.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian pendahuluan dilakukan tanggal 23 Agustus 2013 untuk mengetahui jenis intensitas latihan tari poco poco. Penelitian utama dilakukan sejak Juni 2016 sampai Maret 2018 mulai tahap persiapan sampai dengan analisis dan penyusunan laporan. Pelaksanaan latihan dimulai Maret 2017 - Mei 2017

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1. Bahan Penelitian

- 1) Darah perifer
- 2) Magnetic Luminex® Performance Assay Human IL-6 High Sensitivity Kit, nomer katalog : LHSCM206
- 3) Magnetic Luminex® Performance Assay Human TNF- High Sensitivity Kit, nomer katalog : LHSCM210
- 4) Immulite® 2000 IGF-1, nomer katalog : L2KGF2

4.2.2. Instrumen penelitian

Alat-alat yang diperlukan dalam proses penelitian :

- 1) Timbangan badan dan alat pengukur tinggi badan merk Tanita®
- 2) Kuesioner WHOQOL-BREF
- 3) *Stop watch* merk Casio untuk menghitung waktu pengukuran denyut nadi
- 4) *Compact Disc* lagu poco poco berjudul Poco poco-Yopie Latul produksi Insichtech Musicland dan senam jantung sehat seri 4 dan 6 produksi oleh Yayasan Jantung Sehat
- 5) Pemutar CD merk Sony CMT-SBT20
- 6) Kartu kehadiran dan catatan denyut nadi

4.3 Tatalaksana Penelitian

4.3.1 Jenis dan Rancangan penelitian yang digunakan

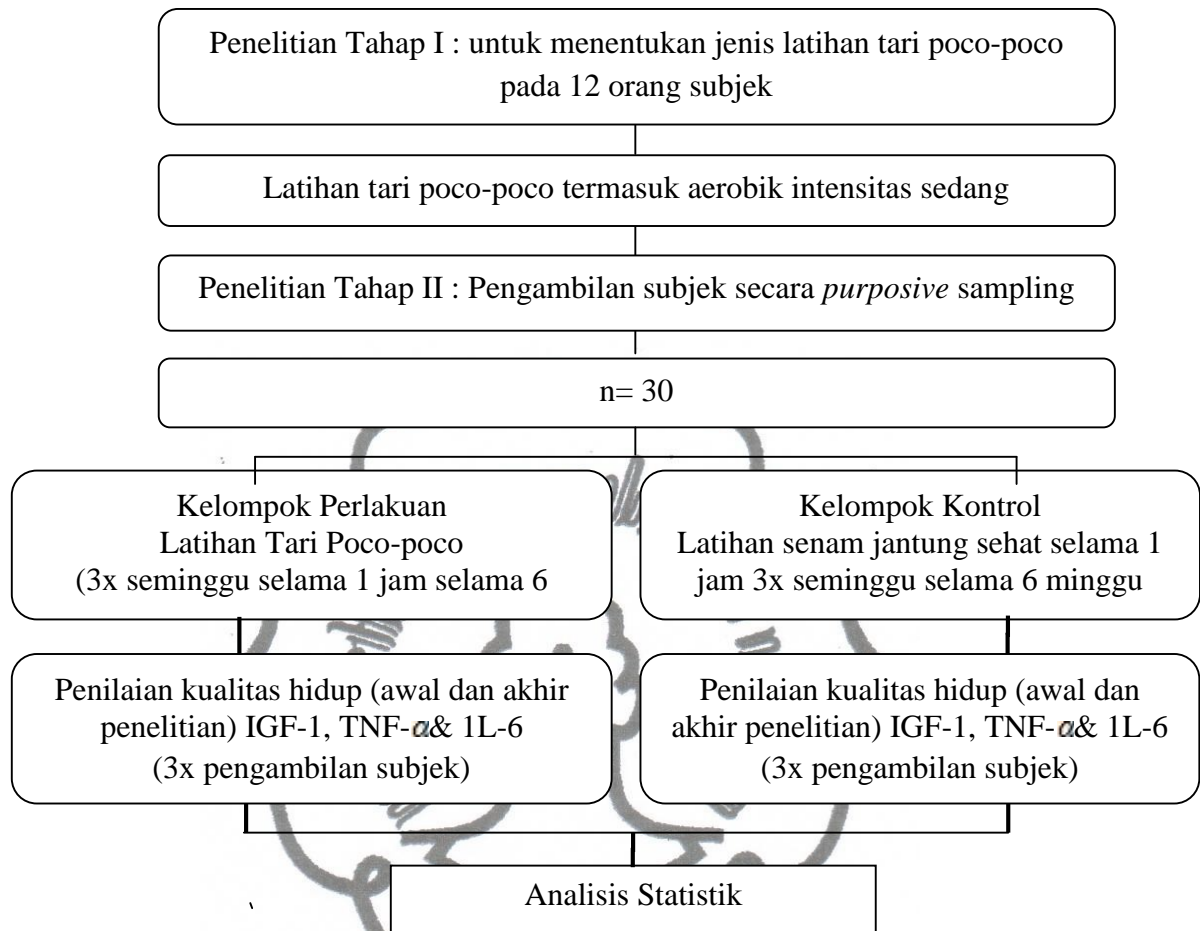
Penelitian pendahuluan (tahap I) dilakukan tanggal 23 Agustus 2013 pada 12 subjek yang datang mengikuti senam pencegahan osteoporosis di RS Ortopedi Prof dr R Soeharso Surakarta, untuk menentukan intensitas latihan tari poco-poco karena sebelumnya belum pernah ada data mengenai intensitas latihan tari poco-poco. Penelitian dilakukan pada 12 orang subjek yang berusia 44-62 tahun dan dicatat denyut nadi istirahatnya. Subjek melakukan pemanasan selama 10 menit selanjutnya dimulai dengan gerakan tari poco poco dasar selama 30 menit. Dilakukan penghitungan denyut nadi latihan sewaktu latihan berlangsung selama 15 menit. Peserta melakukan latihan pendinginan setelah melaksanakan poco-poco sampai selesai. Latihan disebut intensitas sedang bila tercapai 40-60% HRR. (*Heart Rate Reserve*). Rumus $HRR = HR_{max} - HR_{resting}$, dimana HR_{max} adalah 220-umur. Misalnya pada subyek yang berusia 40 tahun dengan $HR_{resting}$ 60, maka $HRR = (220-40) - 60 = 120$. Maka untuk *Exercise HR range* = $(HRR \times training\ range\ \%) + HR_{resting}$. Jadi $120 \times 40 - 60\% + 60 = 108-132$ denyut permenit. Bila dalam berlatih poco-poco memiliki

denyut nadi dalam *range* tersebut berarti masuk intensitas sedang. Dari kedua belas subyek, semuanya termasuk dalam *range* intensitas sedang.

Metode yang digunakan pada penelitian selanjutnya adalah metode eksperimental *randomized control trial* (RCT) dimana ada suatu populasi studi (lansia) yang setelah memenuhi syarat dan setuju berpartisipasi akan dilakukan randomisasi menjadi 2 kelompok dan diberikan perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan latihan tari poco-poco, sedangkan kelompok kontrol diberikan latihan senam jantung sehat yang standar (seri 4 dan 6). Pengambilan data dilakukan sebelum latihan, segera setelah latihan yang pertama dan segera setelah latihan terakhir di minggu ke-6.

Pengambilan subjek penelitian dilakukan dengan *purposive sampling*, dengan mengambil lansia yang biasa aktif bergerak meskipun tidak melakukan latihan rutin 3 kali seminggu. Setelah didapatkan beberapa kelompok klub senam jantung sehat di Surakarta, dilakukan randomisasi dan diambil dua kelompok. Dari dua kelompok tersebut dirandom untuk ditentukan kelompok yang mendapat latihan tari poco-poco dan kelompok yang lain melakukan senam jantung sehat dengan durasi, frekuensi dan intensitas yang sama. Jumlah subjek masing-masing kelompok adalah 15 orang, dengan total subjek 30 orang.

Rancangan penelitian ini dijelaskan melalui bagan rancangan penelitian dibawah ini



4.3.2. Populasi, Besar Subjek dan Teknik Pengambilan Subjek

a. Populasi

Populasi Sasaran (*Target Population*) adalah lansia yang berusia 60-80 tahun. Populasi Sumber (*Source Population*) adalah lansia yang tinggal di wilayah Surakarta dan mengikuti kegiatan kelompok lansia. Populasi Studi/Subjek Penelitian adalah lansia anggota klub senam jantung sehat di Surakarta yang dirandom dan didapatkan 2 kelompok / 2 lokasi. Pengambilan subjek penelitian dilakukan dengan *purposive sampling* dengan mengambil lansia yang biasa aktif bergerak meskipun tidak melakukan latihan rutin 3 kali seminggu. Setelah didapatkan beberapa kelompok klub senam jantung sehat di Surakarta, dilakukan randomisasi dan diambil dua kelompok. Dari dua kelompok tersebut dirandom untuk ditentukan kelompok yang mendapat latihan tari poco-poco dan kelompok

yang lain melakukan senam jantung sehat dengan durasi, frekuensi dan intensitas yang sama. Jumlah subjek masing-masing kelompok adalah 15 orang, dengan total subjek 30 orang.

Penelitian ini menggunakan subjek anggota klub senam jantung sehat karena anggotanya merupakan lansia yang aktif secara fisik dan dilakukan penapisan untuk dapat memenuhi kriteria inklusi. Subjek yang memenuhi syarat dan bersedia ada 30 orang dan semuanya wanita.

b. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah lansia yang berusia 60-80 tahun, aktif dan mandiri dalam kegiatan sehari-hari, tetapi tidak mengikuti latihan rutin lebih dari 2x seminggu. Dalam penelitian ini tidak diajarkan per gerakan mulai dari awal, tetapi peserta menirukan gerakan pelatih untuk menjaga dosis latihan yang tepat (intensitas dan durasi). Bila dilakukan pada lansia yang kurang aktif bergerak, diperkirakan akan kurang dapat mengikuti latihan dengan baik.

Penelitian ini merupakan penelitian analitik numerik berpasangan. Untuk jumlah subjek menggunakan rumus :

$$n_1=n_2= 2 \left[\frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})S}{x_1-x_2} \right]^2$$

Keterangan :

n = besar subjek atau replikasi

z_{α} = tingkat kesalahan tipe 1

z_{β} = tingkat kesalahan tipe 2

x_1-x_2 = perbedaan rerata minimal yang dianggap bermakna

S = simpang baku atau standar deviasi

Setelah dilakukan penghitungan dengan menggunakan tingkat kesalahan tipe 1 sebesar 5% ($z_{\alpha} = 1.96$) kesalahan tipe 2 sebesar 20% ($z_{\beta} = 0.84$), perbedaan rerata minimal yang dianggap bermakna sebesar 3 dan simpang baku sebesar 2, maka didapatkan $n_1=n_2 = 7$ (Dahlan, 2010) Untuk mengantisipasi kemungkinan

drop out atau kerusakan pada unit eksperimen yang mengakibatkan *loss of follow up*, maka dilakukan koreksi sebesar 20% terhadap besar subjek dari penghitungan semula.

$$n = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan :

N = perkiraan besar subjek

F = perkiraan proporsi *drop out* (Dahlan, 2010)

Berdasarkan penghitungan tersebut maka besar subjek yang akan digunakan pada studi ini paling sedikit 10 untuk kelompok perlakuan dan minimal 10 untuk kelompok kontrol. Pada penelitian ini didapatkan 30 orang subjek, masing-masing kelompok 15 orang dan semua mengikuti latihan ini sampai selesai.

c. Teknik Pengambilan Subjek

Dengan cara *purposive sampling* didapatkan populasi terjangkau kemudian dilakukan pemilihan subjek dengan menggunakan kriteria penelitian sebagai berikut:

Kriteria inklusi :

- 1) Lansia (usia 60-80 tahun)
- 2) Tidak melakukan kegiatan olahraga lebih dari 2x seminggu
- 3) Mampu melakukan *exercise testing* (uji latih) dan latihan poco-poco, tanpa menimbulkan keluhan misalnya nyeri dada atau pusing
- 4) Mandiri dalam aktivitas sehari-hari (berjalan, mandi, berpakaian, makan)
- 5) Mampu memahami perintah
- 6) Tidak merokok

Kriteria eksklusi :

- 1) Gangguan kardiopulmoner yang tidak stabil
- 2) Gangguan kognitif (skor MMSE < 24)

- 3) Kontraindikasi melakukan latihan karena gangguan muskuloskeletal (misal arthritis akut)
- 4) Menderita kanker/keganasan atau kondisi medis dan neurologis yang tidak stabil

Kriteria *drop out* yaitu tidak mengikuti latihan seperti yang telah ditentukan (3x seminggu selama 6 minggu).

4.3.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

a. Variabel penelitian

1) Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah perlakuan berupa latihan tari poco-poco

2) Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah respons imun (IL-6 dan TNF α), IGF-1 dan kualitas hidup

3) Variabel perancu

Variabel perancu adalah status hormonal, status gizi, riwayat vaksinasi, riwayat infeksi, diet, flora usus. Penelitian mengendalikan variabel perancu yaitu status hormonal yang berkaitan dengan reproduksi (semua subjek sudah *menopause*)

b. Definisi operasional variabel

1) Tari Poco-poco

Tari yang gerakannya menyerupai gerakan senam seperti *line dance* yang dibawakan secara berkelompok dan diiringi lagu, dengan intensitas latihan setara dengan *aerobic* intensitas sedang, dilakukan dalam 3 kali seminggu selama 6 minggu. Hasil ukur yaitu melakukan latihan tari poco-poco dan tidak melakukan latihan tari poco-poco. Skala data : nominal

2) Respons Imun

Respons tubuh berupa suatu urutan kejadian yang kompleks terhadap antigen, untuk mengeliminasi antigen tersebut. Respons imun ini dapat melibatkan berbagai macam sel dan

protein, terutama sel makrofag, sel limfosit, komplemen, dan sitokin yang saling berinteraksi secara kompleks. Dapat diukur salah satu caranya dengan menilai kadar sitokin yaitu : IL-6 dan TNF- α

Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) merupakan sitokin yang sangat berperan dalam infeksi dan peradangan, merupakan petanda awal oleh adanya rangsang endotoksin, meningkat setelah 90 menit dari rangsangan tersebut. Cara ukur : menggunakan metode ELISA dengan reagen *Magnetic Luminex Performance Assay Human TNF- High Sensitivity Kit*. Hasil ukur : kadar TNF- α serum (pg/ml). Skala data : rasio.

Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin yang memiliki dua aktivitas, sebagai sitokin pro inflamasi yang bereaksi terhadap sepsis dan diproduksi oleh makrofag. Selain itu IL-6 juga berperan sebagai sitokin anti inflamasi, setelah dilepas oleh otot skeletal selama *exercise*, IL-6 akan menekan sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1 . IL-6 merupakan sitokin yang paling konsisten untuk dapat diperiksa sebagai reaksi dari latihan fisik. Cara ukur : menggunakan metode ELISA dengan reagen *Magnetic Luminex Performance Assay Human IL-6 High Sensitivity Kit*. Hasil ukur : kadar IL-6 serum (pg/ml). Skala data : rasio

IGF-1 merupakan merupakan hormon yang diproduksi oleh hati dan otot rangka serta jaringan lainnya sebagai respons terhadap stimulasi *growth hormone* (GH). Bersama dengan GH, IGF-1 membantu mempromosikan perkembangan dan pertumbuhan tulang serta jaringan lain yang normal. Penilaian IGF-1 normal tergantung pada kelompok umur.

Nilai normal IGF-1	usia 61-65 tahun : 75-212 ng/ml
	usia 66-70 tahun : 69-200 ng/ml
	usia 71-75 tahun : 64-188 ng/ml

Cara ukur : dengan metode immunochemiluminescent menggunakan kit Immulite® 2000 IGF-1. Hasil ukur : kadar IGF-1 serum (ng/ml). Skala data : rasio

3) Kualitas Hidup (*Quality of Life*)

Kualitas hidup adalah persepsi seseorang dalam konteks budaya dan norma yang sesuai dengan tempat hidup orang tersebut serta berkaitan dengan tujuan, harapan, standar dan kepedulian selama hidupnya. Hasil ukur : nilai kualitas hidup. Cara ukur : dilakukan dengan WHOQOL-BREF edisi bahasa Indonesia dengan wawancara oleh peneliti dan asisten secara *double blind* (asisten tidak mengetahui tujuan dilakukannya wawancara kuesioner) dan hasilnya diolah dengan statistik. WHOQOL-BREF ini terdiri dari 4 domain yaitu kesehatan fisik (*physical health*), psikologi (*psychological*). Hubungan social (*social relationship*) dan lingkungan (*environment*). Skala data : rasio.

4.4 Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etika Penelitian RS Ortopedi Prof Dr R Soeharso Surakarta No UM.01.05/XXX.23/5902/ 2017 pada tanggal 3 Pebruari 2017 dan berlaku selama 1 tahun.

4.5 Prosedur pengambilan dan pengumpulan data

Perlakuan yang diberikan adalah tari poco-poco pada lansia

1. Pemberian perlakuan

- a. Kelompok kontrol adalah perlakuan pelatihan dengan senam jantung sehat seri 6, dilakukan seminggu tiga kali, dengan durasi 60 menit selama 6 minggu.

- b. Kelompok perlakuan adalah perlakuan dilakukan dengan latihan tari poco-poco, gerakan dasar satu sampai lima, seminggu tiga kali selama 6 minggu. Latihan termasuk latihan pemanasan dan pendinginan.

Instruktur untuk tari poco-poco dan senam jantung sehat adalah staf pengajar di jurusan keolahragaan FKIP UNS. Sebelum latihan diambil denyut nadi istirahat dan setelah latihan inti dilakukan penghitungan denyut nadi latihan. Peserta melaporkan denyut nadi pada asisten pelatih untuk dicatat di kartu latihan. Sebelum memulai latihan yang pertama (pada hari yang berbeda) dan setelah latihan 6 minggu dilakukan uji jalan 6 menit untuk mengetahui tingkat kebugaran jasmani naracoba ($VO_2 max$). Jarak tempuh yang mampu dicapai oleh naracoba dimasukkan dalam rumus konversi $VO_2 max$, sebagai data tambahan dan menggambarkan karakteristik subjek penelitian.

2. Prosedur Pengumpulan data

Pada penelitian ini pengambilan sampel darah dilakukan tiga kali. Pertama sebelum mulai latihan, pengambilan kedua dilakukan segera setelah latihan yang pertama dan pengambilan sampel terakhir segera setelah latihan terakhir di minggu ke-6.

Pengukuran TNF- α dan IL-6 dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Pengukuran IGF-1 dengan metode *immunochemiluminescent*.

Pengukuran kualitas hidup dengan WHOQOL-BREF edisi bahasa Indonesia, dilakukan dua kali yaitu sebelum mulai latihan dan setelah latihan selesai pada minggu ke-6.

3. Prosedur Pemeriksaan IL-6

Pemeriksaan ini menggunakan teknik kuantitatif *sandwich enzyme immuno-assay*. Sebelumnya antibodi monoklonal spesifik untuk IL-6 telah di-*coated* dalam *microplate*. Standar dan sampel dipipet ke dalam *well* dan keberadaan IL-6 akan disandwich (dipasangkan) oleh *immobilized antibody* dalam *well*.

Setelah dilakukan pencucian untuk menghilangkan substansi-substansi yang tidak terikat, kemudian ditambahkan *biotinylated polyclonal antibody* yang spesifik terhadap IL-6. Kemudian setelah dilakukan pencucian kembali untuk menghilangkan reagen *antibody-enzyme* yang tidak berikatan, selanjutnya larutan *enzyme-linked streptavidin* ditambahkan ke dalam *well*. Setelah dicuci dan kompleks *streptavidin-enzyme* yang tidak berikatan dibuang, substrat ditambahkan ke dalam *well* dan kemudian terbentuklah warna yang sebanding dengan jumlah IL-6 HS yang terikat. Pembentukan warna dihentikan dan kemudian intensitas warna diukur.

4. Prosedur Pemeriksaan TNF-

Pemeriksaan ini menggunakan teknik kuantitatif *sandwich enzyme immuno-assay*. Sebelumnya antibodi monoklonal spesifik untuk TNF- telah di-*coated* dalam *microplate*. Standar dan sampel dipipet ke dalam *well* dan keberadaan TNF- akan disandwich (dipasangkan) oleh *immobilized antibody* dalam *well*.

Setelah dilakukan pencucian untuk menghilangkan substansi-substansi yang tidak terikat, kemudian ditambahkan *enzyme-linked polyclonal antibody* yang spesifik terhadap TNF- . Kemudian setelah dilakukan pencucian kembali untuk menghilangkan reagen *antibody-enzyme* yang tidak berikatan, selanjutnya larutan substrat ditambahkan ke dalam *well* dan kemudian terbentuklah warna yang sebanding dengan jumlah TNF- HS yang terikat. Pembentukan warna dihentikan dan kemudian intensitas warna diukur.

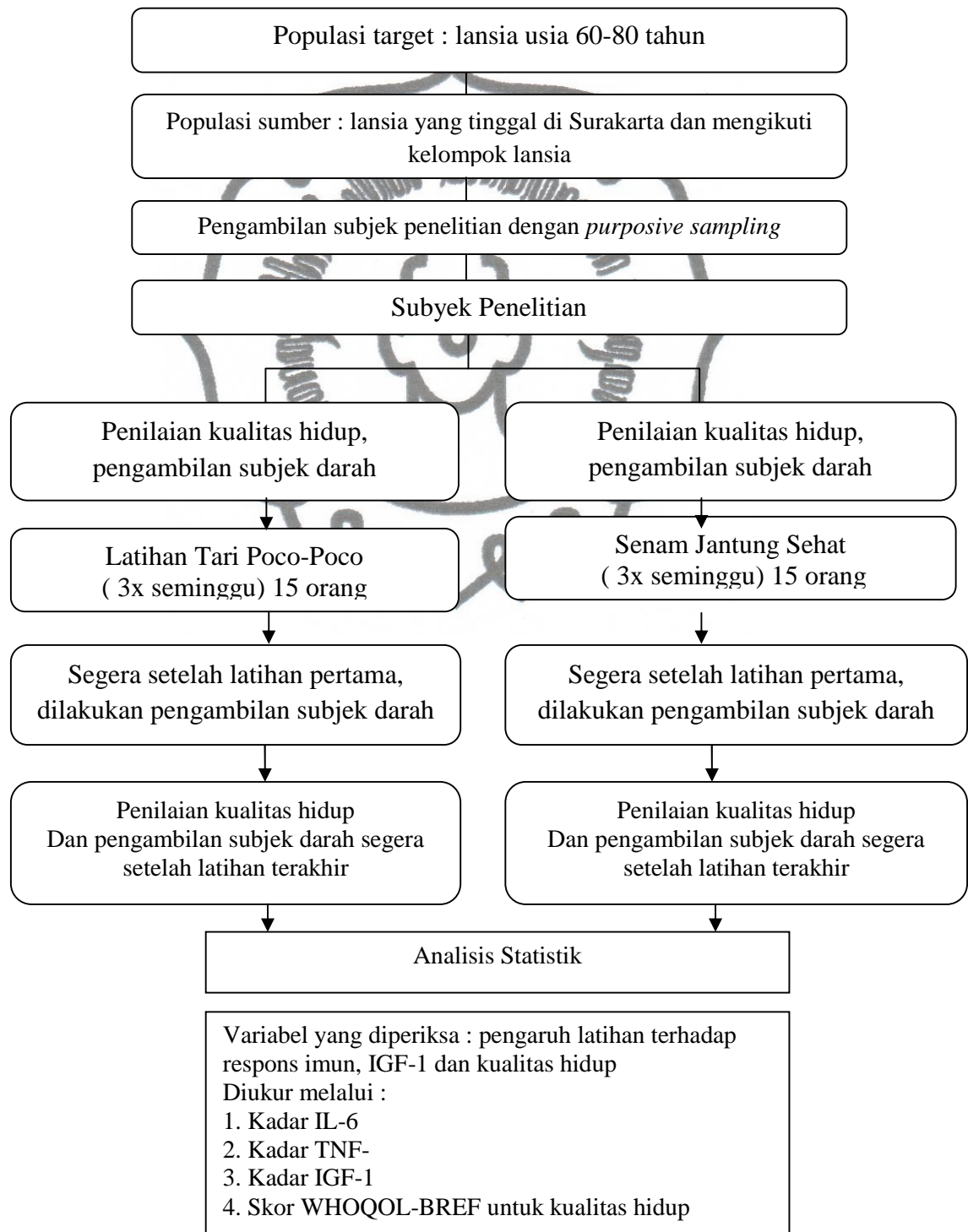
5. Prosedur Pemeriksaan IGF-1

Pemeriksaan menggunakan metode *immunochemiluminescent* dengan menggunakan *Immulite® 2000 system*. Pengerjaannya sebagai berikut :

- a. Reagen *wedge* dan *bead pack* diletakkan dalam karosel reagen dan *karosel bead*
- b. Sampel darah subjek diletakkan ke dalam karosel sampel

- c. Kontrol dimasukkan ke dalam *worklist*
- d. Tekan *RUN*
- e. Hasil akan muncul di *screen* setelah pemeriksaan selesai

4.6 Alur Penelitian



4.7 Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis sebagai berikut :

1. Analisis deskriptif

Data dengan skala numerik yaitu kadar IL-6, TNF- α , IGF-1 dan nilai kuesioner WHOQOL-BREF diolah secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk nilai rerata dan standar deviasi.

2. Analisis normalitas dan homogenitas

Selanjutnya data dengan skala numerik tersebut diuji normalitas sebaran datanya dengan uji Shapiro-Wilk. Analisis statistik dilakukan dengan program statistik *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Data hasil penelitian kemudian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik. Uji homogenitas dilakukan dengan Levene's test untuk mengetahui apakah dua kelompok data mempunyai varians yang sama atau tidak

3. Uji Parametrik dan Non Parametrik

Pada penelitian ini didapatkan data dengan distribusi yang normal dan tidak normal. Untuk data yang distribusinya normal, menggunakan metode uji parametrik dengan *t test* sedangkan untuk data yang distribusinya tidak normal, menggunakan uji non parametrik dengan uji *Shapiro-Wilk* dan *Mann-Whitney*