

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan dengan intervensi pemberian susu selama 4 bulan, bertempat di Asrama Putra Tingkat Persiapan Bersama Institut Pertanian Bogor (TPB IPB). Pemeriksaan darah dilaksanakan di Laboratorium SEAMEO-TROPMED FK-UI Jakarta dan Laboratorium PMI Bogor. Pemeriksaan kepadatan tulang dilakukan di Klinik Teratai Unit Densitometry RSCM Jakarta.

Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan "*Feeding Program for Needy Students*" kerjasama SEAFAST *Centre* dengan Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia dan Departemen Ilmu & Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

### Desain Penelitian

#### Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan adalah langkah-langkah lengkap yang dipersiapkan sebelum percobaan dilakukan yang bertujuan untuk memperoleh data agar kesimpulan yang dihasilkan sah. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Tersarang. Penggunaan rancangan didasarkan karena volume susu tersarang pada jenis susu. Penelitian ini terdiri dari 2 faktor yaitu jenis susu dengan 2 taraf dan volume susu dengan 3 taraf. Setiap unit percobaan hanya mendapat satu jenis susu dan satu volume susu, sehingga tidak memungkinkan terjadinya interaksi.

Dalam pelaksanaannya, perlakuan pemberian susu untuk setiap unit percobaan dilakukan berdasarkan volume susu dari jenis susu yang telah ditentukan berdasarkan hasil pengacakan. Dalam hal ini, setiap unit percobaan hanya mendapat satu perlakuan, sesuai dengan hasil pengacakan.

**Unit Percobaan.** Unit percobaan atau satuan percobaan adalah unit terkecil dalam suatu percobaan yang diberi suatu perlakuan (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Unit percobaan yang digunakan adalah remaja putra yang mempunyai kriteria sebagai berikut :

1. Mahasiswa Tingkat Persiapan Bersama IPB dengan usia sekitar 17 – 19 tahun
2. Mempunyai Indeks Massa Tubuh (IMT) < 18,5
3. Tidak sedang mengikuti kegiatan yang serupa di tempat/kelompok lain.
4. Bersedia untuk mengikuti semua kegiatan penelitian yang dilakukan

Penentuan unit percobaan dilakukan dengan terlebih dahulu menseleksi mahasiswa TPB melalui pemeriksaan kesehatan dan pemeriksaan darah. Setelah dinyatakan sehat dan memenuhi syarat, dilakukan pengukuran Indeks Massa Tubuh (IMT). Pengukuran IMT bertujuan untuk memilih unit percobaan yang mempunyai IMT <18,5. Pemilihan ini dilakukan karena kelompok remaja dengan IMT rendah merupakan kelompok yang rawan terhadap penyakit tulang (osteoporosis) pada saat lanjut usia. IMT antara lain ditentukan oleh berat badan. Menurut Whitney dan Sizer (2000), osteoporosis sering dihubungkan dengan berat badan yang rendah (kurus) dan seseorang yang memiliki berat badan yang lebih tinggi mempunyai risiko osteoporosis yang lebih rendah.

**Faktor.** Faktor adalah peubah bebas yang dicobakan dalam percobaan sebagai penyusun struktur perlakuan (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Peubah bebas yang dicobakan dapat bersifat kualitatif maupun kuantitatif. Dalam penelitian ini terdapat 2 faktor, faktor pertama adalah jenis susu yang merupakan peubah bebas kualitatif dan faktor ke dua adalah volume susu sebagai peubah bebas kuantitatif.

**Taraf.** Taraf adalah nilai-nilai faktor (peubah bebas) yang dicobakan dalam percobaan. Faktor jenis susu memiliki 2 taraf (susu berkalsium tinggi dan susu segar) dan volume susu terdiri atas 3 taraf (250 ml, 500 ml, 750 ml).

**Perlakuan.** Perlakuan adalah prosedur yang pengaruhnya hendak diukur dan dibandingkan dengan perlakuan lain (Steel dan Torrie, 1989) atau merupakan suatu prosedur yang diterapkan pada unit percobaan (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Suatu perlakuan dalam penelitian tersusun dari beberapa faktor atau peubah bebas. Pada penelitian ini perlakuan yang dilakukan merupakan kombinasi atas jenis susu dan volume susu, terdiri dari 6 perlakuan (2 X 3) yaitu kombinasi dari jenis susu perlakuan dengan 2 taraf (susu berkalsium tinggi dan susu segar)

dan volume susu dengan 3 taraf (250 ml, 500 ml dan 750 ml) dengan rincian sebagai berikut :

1. Pemberian susu berkalsium tinggi, volume 250 ml (diminum 1 X sehari)
2. Pemberian susu berkalsium tinggi, volume 500 ml (diminum 2 X sehari)
3. Pemberian susu berkalsium tinggi, volume 750 ml (diminum 3 X sehari)
4. Pemberian susu segar, volume 250 ml (diminum 1 X sehari)
5. Pemberian susu segar, volume 500 ml (diminum 2 X sehari)
6. Pemberian susu segar, volume 750 ml (diminum 3 X sehari)

**Peubah Respon.** Peubah respon atau peubah tidak bebas (dependen) merupakan peubah yang nilainya tergantung dari nilai faktor (peubah bebas). Peubah respon dari penelitian ini adalah :

1. Kadar kalsium darah
2. Kepadatan tulang (pinggang, punggung, kepala, lengan, rusuk, panggul, kaki)

**Peubah Pengganggu.** Peubah pengganggu dalam penelitian ini adalah peubah yang keberadaannya dapat mempengaruhi hasil pada peubah respon, selain pengaruh dari perlakuan yang diberikan. Dalam penelitian ini yang menjadi peubah pengganggu adalah :

1. Tingkat konsumsi energi dan zat gizi
2. Aktivitas (olahraga)
3. IMT awal
4. Kadar kalsium darah awal
5. Kepadatan tulang awal

**Pengulangan.** Salah satu prinsip dasar percobaan adalah harus adanya ulangan. Ulangan yaitu pengalokasian perlakuan tertentu terhadap beberapa unit percobaan pada kondisi yang seragam (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Penentuan jumlah ulangan yang digunakan untuk mengukur peubah respon dilakukan melalui pendekatan dengan menggunakan rumus berikut ini (Walpole, 1995) :

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

$H_0 : \mu = \mu_0$

$H_1 : \mu = \mu_0 + \delta$

Power test = 95%

$n$  = jumlah ulangan

$Z\alpha$  = nilai peubah acak normal baku sehingga  $P(Z > Z\alpha) = \alpha = 0,05$

$Z\beta$  = nilai peubah acak normal baku sehingga  $P(Z > Z\beta) = \beta = 0,05$

$\sigma^2$  = ragam kadar kalsium darah, diasumsikan = 1

$\delta$  = perkiraan peningkatan kadar kalsium dari pemberian susu 250 ml ke 500 ml = 1,2

Berdasarkan rumus tersebut diperoleh jumlah ulangan (n) untuk setiap kelompok perlakuan sebanyak 7,47 orang (dibulatkan menjadi 8 orang). Dengan demikian jumlah unit percobaan yang diperlukan untuk 2 jenis susu dengan masing-masing 3 taraf pemberian susu adalah sebanyak 48 orang (2 X 3 X 8).

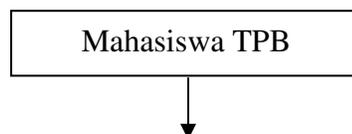
Setelah jumlah unit percobaan diperoleh, dilakukan pengacakan untuk menentukan kelompok unit percobaan dalam unit perlakuan yaitu dengan pemberian susu dalam 3 (tiga) tingkat volume susu (250 ml, 500 ml dan 750 ml). Sebagai pembanding (tidak melalui percobaan) dalam penelitian ini digunakan sebanyak 7 orang.

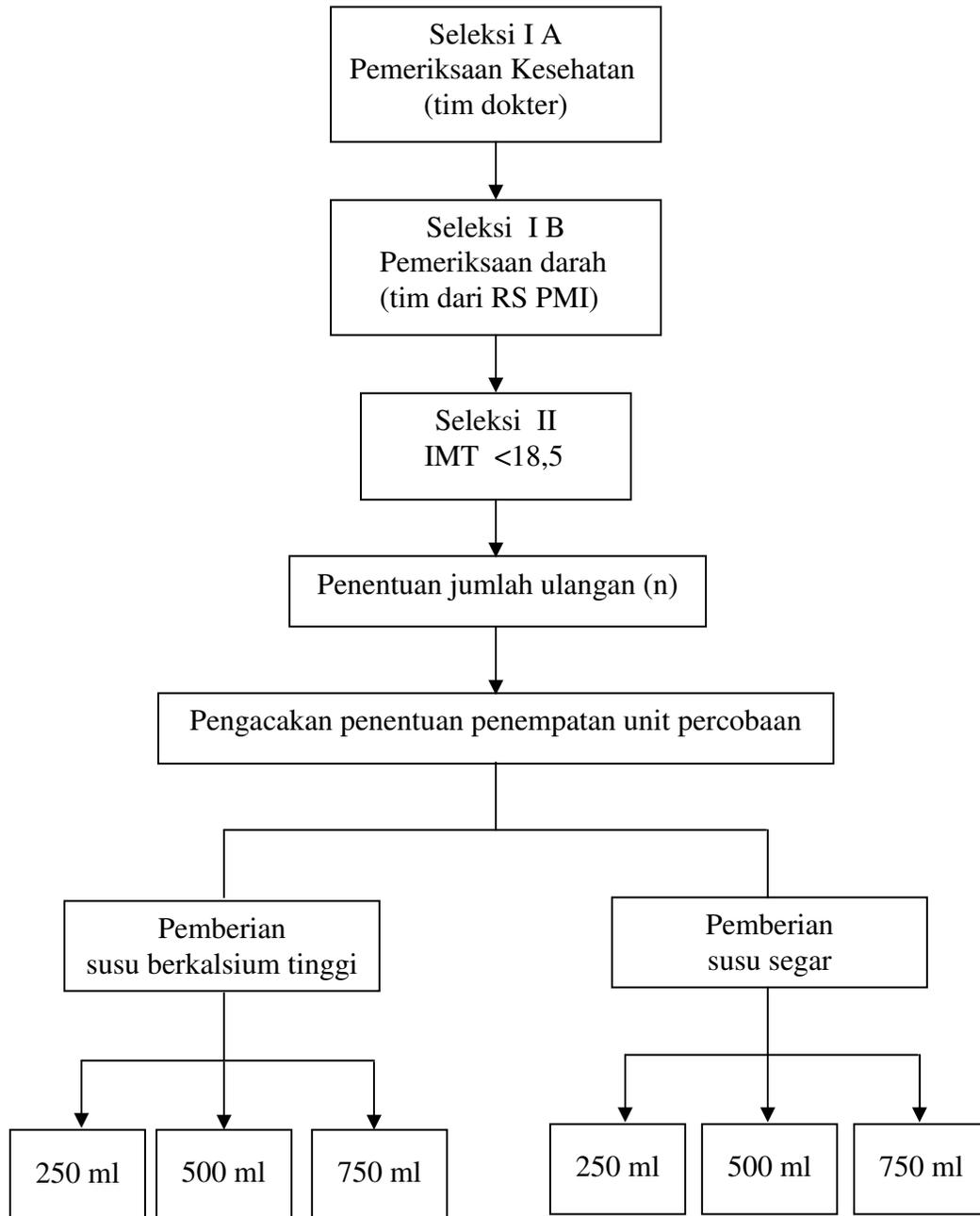
**Pengacakan.** Tujuan pengacakan adalah agar setiap unit percobaan memiliki peluang yang sama untuk memperoleh suatu perlakuan tertentu. Pengacakan perlakuan pada unit-unit percobaan dapat menggunakan tabel bilangan acak, sistem lotere secara manual atau dapat juga menggunakan komputer (Mattjik dan Sumertajaya, 2002).

Pengacakan perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini adalah melalui sistem lotere secara manual. Setiap unit percobaan (48 orang) dicatat dengan memberikan nomor secara berurutan (dari 1 hingga 48). Kelompok jenis susu segar diberikan kode F dan untuk kelompok susu berkalsium tinggi diberikan kode H. Kode F dan H masing-masing dibagi dalam tiga kelompok lagi berdasarkan volume susu yang diberikan (250 ml, 500 ml, 750 ml). Untuk kelompok volume pemberian jenis susu segar (F1, F2, F3) dan susu berkalsium tinggi (H1, H2, H3) masing-masing perlakuan terdiri dari 8 orang sebagai unit percobaan dengan rincian :

1. Jenis susu berkalsium tinggi, volume susu 250 ml = 8 unit percobaan
2. Jenis susu berkalsium tinggi, volume susu 500 ml = 8 unit percobaan
3. Jenis susu berkalsium tinggi, volume susu 750 ml = 8 unit percobaan
4. Jenis susu segar, volume susu 250 ml = 8 unit percobaan
5. Jenis susu segar, volume susu 500 ml = 8 unit percobaan
6. Jenis susu segar, volume susu 750 ml = 8 unit percobaan

Selanjutnya nomor urut perlakuan tersebut ditulis pada kertas lalu digulung dan dimasukkan dalam tempat khusus dan dilakukan penarikan gulungan kertas secara lotere. Nomor perlakuan yang pertama tertarik digunakan untuk perlakuan unit percobaan nomor urut 1 dan seterusnya.





Gambar 3 Skema seleksi dan penempatan unit percobaan

### **Bahan Percobaan**

Bahan percobaan yang diberikan dalam penelitian ini adalah berupa susu cair UHT (*Ultra High Temperature*) komersial dalam bentuk dua jenis yaitu susu berkalsium tinggi dan susu segar. Masing-masing jenis susu diberikan dalam tiga kelompok volume. Kandungan zat gizi utama susu perlakuan seperti terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4 Kandungan zat gizi utama susu perlakuan

| No. | Zat Gizi             | Kandungan zat gizi / 250 ml |                |
|-----|----------------------|-----------------------------|----------------|
|     |                      | Susu berkalsium tinggi (H)  | Susu segar (F) |
| 1   | Energi (kkal)        | 110,0                       | 150            |
| 2   | Protein (g)          | 8,3                         | 7,5            |
| 3   | Kalsium (mg)         | 327,5                       | 270,0          |
| 4   | Fosfor (mg)          | 222,5                       | 216,2          |
| 5   | Vitamin D ( $\mu$ g) | 2,69                        | 2,66           |
| 6   | Vitamin C (mg)       | 8,56                        | 9,00           |
| 7   | Besi (mg)            | 0,51                        | 0,50           |

Berdasarkan kandungan zat kalsium seperti terlihat pada Tabel 4 di atas, susu berkalsium tinggi yang digunakan sudah memenuhi syarat sesuai dengan klaim sebagai susu yang mengandung kalsium tinggi. Menurut persyaratan klaim gizi pada label pangan produk, pangan yang menyatakan kaya dalam setiap suatu zat gizi, harus mengandung zat gizi tersebut paling sedikit 20% ALG (Acuan Label Gizi) dalam setiap ukuran saji (Karmini dan Briawan 2004). Pada acuan label gizi 2004 (ALG 2004), tercantum nilai ALG zat kalsium untuk konsumen umum sebesar 800 mg, sehingga 20% dari nilai ALG tersebut adalah sebesar 160 mg, sedangkan kandungan kalsium pada susu berkalsium tinggi yang digunakan adalah 327,50 mg. Dengan demikian kandungan kalsium dari susu berkalsium tinggi yang digunakan mempunyai nilai 2,04 kali dari nilai kandungan zat kalsium pada ALG sehingga layak mempunyai klaim gizi sebagai susu yang mengandung kalsium tinggi (*high calcium*).

## Pelaksanaan Penelitian

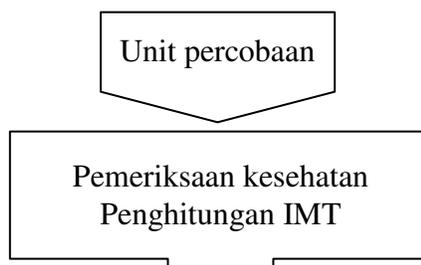
### Pemeriksaan Kesehatan

Pemeriksaan kesehatan dilakukan oleh dokter, bertujuan untuk mengetahui kondisi kesehatan calon unit percobaan, sehingga diketahui kelayakan unit percobaan untuk dijadikan unit percobaan penelitian. Pemeriksaan ini sangat penting untuk mengantisipasi kemungkinan negatif mengingat unit percobaan harus dalam kondisi sehat khususnya tidak mempunyai penyakit ataupun gangguan kesehatan lainnya yang dapat mengganggu jalannya penelitian.

Pemeriksaan kesehatan yang dilakukan pada penelitian ini adalah :

- a. Wawancara dengan unit percobaan tentang keluhan, tanda dan gejala sakit yang dialami, meliputi : keluhan yang sedang dialami, tanda dan gejala sakit semenjak 6 bulan terakhir, riwayat sakit pada keluarga, riwayat penyakit yang pernah dialami dan riwayat alergi
- b. Pemeriksaan fisik (*physical examination*), meliputi : tekanan darah, frekuensi nadi dan nafas, suhu tubuh, kesehatan mata, kesehatan telinga, hidung, tenggorokan (THT), kesehatan kulit, jantung dan paru-paru serta kesehatan abdomen

Apabila terdapat unit percobaan yang tidak sehat atau mempunyai  $IMT \geq 18,5$  maka selanjutnya dikeluarkan dan tidak dapat mengikuti tahapan kegiatan berikutnya. Setelah dilakukan pemeriksaan kesehatan, dilakukan pemberian obat cacing dengan maksud agar unit percobaan terbebas dari penyakit cacingan yang dapat mengganggu penyerapan zat gizi dalam saluran pencernaan. Skema tahapan pelaksanaan penelitian selengkapny dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Skema tahapan pelaksanaan penelitian

**Adaptasi Unit Percobaan**

Sebelum pemberian perlakuan, diberikan masa adaptasi pada unit percobaan melalui pemberian jenis susu yang sama/menyerupai susu yang akan digunakan dalam penelitian. Hal ini dilakukan karena unit percobaan yang akan dijadikan unit percobaan harus terlebih dahulu terbiasa mengonsumsi susu tersebut, sehingga pada saat perlakuan penelitian diberikan, unit percobaan tidak lagi merasa terpaksa mengonsumsinya.

Masa adaptasi ini juga ditujukan untuk membiasakan unit percobaan dengan pola pemberian susu yang dilakukan sehingga selama penelitian berlangsung tidak terjadi keraguan dalam pengambilan susu.

### **Pemberian Susu**

Pemberian susu dilakukan setiap hari dalam waktu 16 minggu (4 bulan). Setiap unit percobaan memperoleh jenis dan volume susu sesuai dengan hasil pengacakan yang dilakukan. Susu yang diberikan ada 2 jenis yaitu susu berkalsium tinggi (*high calcium milk*) dan susu segar (*fresh milk*) dalam 3 taraf volume (untuk setiap jenis susu), yaitu 250 ml, 500 ml dan 750 ml.

Penggunaan batas maksimal pemberian susu perlakuan (750 ml) dengan pertimbangan bahwa pada kandungan gizi susu yang digunakan dalam 250 ml terdapat kalsium sebesar 270 mg pada jenis susu segar dan 327,50 mg pada jenis susu berkalsium tinggi. Pada daftar Angka Kecukupan Gizi (AKG) 2004 untuk kalsium pada kelompok usia 16 – 18 tahun sebesar 1000 mg dan pada usia 19 – 29 tahun sebesar 800 mg, sehingga kisaran kebutuhan kalsium untuk usia unit percobaan (17 – 19 tahun) adalah 800 mg – 1000 mg. Dengan demikian untuk dapat memenuhi kisaran AKG tersebut maka masing-masing jenis susu dibutuhkan sebanyak 750 ml, yaitu 750 ml pada jenis susu segar (810 mg kalsium) dan 750 ml pada jenis susu berkalsium tinggi (982,5 mg kalsium).

### **Pengukuran Konsumsi Pangan**

Pengukuran konsumsi pangan bertujuan untuk mengetahui kebiasaan konsumsi unit percobaan yang meliputi jenis pangan (pangan pokok, jajanan, minuman, suplemen), frekuensi dan jumlah konsumsi dari setiap jenis pangan dalam ukuran rumah tangga (URT). Pengumpulan data dilakukan dengan pengisian kuisioner melalui teknik wawancara.

Sebelum menentukan jenis metode pengukuran konsumsi pangan yang akan digunakan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran konsumsi pangan dengan metode *food record* selama dua minggu awal penelitian. Tujuan dilakukannya hal ini adalah untuk membandingkan tingkat konsumsi pangan (total energi) antara minggu pertama dan minggu ke dua tersebut. Apabila terdapat perbedaan nyata, maka metode pengukuran konsumsi pangan selanjutnya tetap dilakukan dengan metode *food record* dan apabila tidak terdapat perbedaan nyata, maka pengukuran dilakukan dengan metode *food recall* 1 X 24 jam

### **Pengukuran Konsumsi Zat Gizi**

Pengukuran dilakukan dengan menghitung konsumsi pangan dari satuan URT ke dalam satuan berat (gram). Dari satuan berat yang diperoleh dapat dihitung asupan zat gizi dari setiap bahan pangan dengan menghitungnya berdasarkan Daftar Komposisi Bahan Makanan (DKBM).

Untuk menghitung jumlah zat gizi dari setiap bahan pangan yang dikonsumsi digunakan rumus seperti berikut ini (Hardinsyah dan Briawan 1994) :

$$\mathbf{Kgij = (Bj/100) X Gij X (BDD/100)}$$

- Kgij = Kandungan zat gizi bahan pangan yang dikonsumsi
- Bj = Berat bahan pangan yang dikonsumsi
- Gij = Kandungan zat gizi yang dikonsumsi dalam 100 gram BDD
- BDD = Bagian bahan pangan yang dapat dimakan (% BDD)

Untuk menghitung kecukupan energi dan protein yang dikoreksi dengan berat badan aktual sehat (dari setiap kelompok usia) digunakan rumus sebagai berikut :

$$\mathbf{AKG = (Ba/Bs) X AKGI}$$

- AKG = Angka Kecukupan Energi atau Protein
- Ba = Berat badan aktual sehat (kg)
- Bs = Berat badan rata-rata yang tercantum dalam AKG
- AKGI = Angka kecukupan energi atau protein yang tercantum dalam AKG

Sedangkan untuk mengukur kecukupan vitamin mineral tidak dilakukan koreksi terhadap berat badan aktual sehat. Angka kecukupan vitamin dan mineral dapat dilihat langsung seperti yang terdapat dalam AKG.

### **Pengukuran Tingkat Konsumsi Zat Gizi**

Tingkat konsumsi energi dan protein dikatakan defisiensi berat apabila tingkat konsumsi di bawah 70% (Depkes 1996). Pengukuran tingkat konsumsi energi dan zat gizi dapat dilakukan dengan menggunakan rumus seperti berikut :

$$\frac{\text{Jumlah konsumsi energi/zat gizi}}{\text{AK Energi atau Gizi yang Dianjurkan}} \times 100\%$$

### **Pengukuran Indeks Massa Tubuh (IMT)**

Pengukuran IMT unit percobaan dilakukan melalui pengukuran berat badan (BB) dan tinggi badan (TB). Tinggi badan diukur dengan menggunakan alat pengukur tinggi badan merk "Seca Alpha" produk Jerman dengan ketelitian 0,1 cm dan berat badan ditimbang menggunakan timbangan berat badan dengan merk "Uchida" produk Jepang dengan ketelitian 10 gram. Selanjutnya nilai IMT dapat diketahui dengan menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{IMT} = \frac{\text{BB}}{\text{TB}^2}$$

IMT = Indeks Massa Tubuh  
BB = Berat Badan (kg)  
TB = Tinggi Badan (m)

Dari rumus tersebut dapat disimpulkan kategori Indeks Massa Tubuh (IMT) berdasarkan batas ambang untuk Indonesia seperti tabel di bawah ini :

Tabel 5 Batas ambang Indeks Massa Tubuh (IMT) untuk Indonesia

| Kategori                       | IMT         |
|--------------------------------|-------------|
| Kurus :                        |             |
| - Kekurangan BB tingkat berat  | < 17        |
| - Kekurangan BB tingkat ringan | 17,0 – 18,5 |
| Normal                         | 18,5 – 25,0 |
| Gemuk :                        |             |
| - Kelebihan BB tingkat ringan  | 25,0 – 27,0 |
| - Kelebihan BB tingkat berat   | >27         |

Sumber : Depkes, 2002.

### **Pengukuran Kadar Kalsium Darah**

Pengukuran kadar kalsium darah dimaksudkan untuk mengetahui adanya pengaruh dari pemberian susu, khususnya kalsium dan zat gizi lainnya, terhadap kadar kalsium darah yang dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Kadar kalsium darah diukur melalui darah dari intravena unit percobaan. Metode pengukuran yang digunakan adalah metode kolorimeter (*endpoint*), dengan alat *automatic photometre* merk Technicon RA-XT.

### **Pengukuran Kepadatan Tulang**

Kepadatan tulang unit percobaan diukur di RSCM Jakarta dengan alat *bone densitometer* merk *Lunar Prodigy* yang dilakukan sebelum dan sesudah penelitian. Menurut Broto (2004), pemeriksaan kepadatan tulang dengan *bone densitometer* merupakan pemeriksaan yang akurat dan presisi untuk menilai kepadatan tulang, sehingga dapat digunakan untuk menilai faktor prognosis, prediksi fraktur dan diagnosis osteoporosis.

Bagian yang diukur adalah meliputi bagian kepala, lengan, rusuk, pinggang, punggung, panggul dan kaki. Dilakukannya pengukuran kepadatan tulang pada bagian-bagian tubuh tersebut karena menurut beberapa peneliti (Teegarden *et al.* 1999 ; Champion dan Maricik 2003 ; Volek *et al.* 2003), tulang-tulang bagian lengan, pinggang, punggung dan panggul paling rentan terkena serangan osteoporosis. Sedangkan dilakukannya pengukuran kepadatan tulang pada bagian kepala, rusuk dan kaki adalah sebagai data tambahan yang diharapkan akan bermanfaat khususnya untuk penelitian-penelitian berikutnya.

### **Pengukuran Aktivitas Fisik**

Pengukuran aktivitas fisik dilakukan dengan mencatat jumlah alokasi waktu untuk berbagai aktivitas fisik setiap satu minggu. Selain itu juga dicatat jenis dan lamanya olahraga yang biasa dilakukan dalam setiap hari/minggu.

Pengukuran aktivitas yang dilakukan pada penelitian ini adalah khusus pada aktivitas olahraga yang dilakukan unit percobaan yang dihitung dalam jam/hari. Dilakukannya pengukuran ini, karena aktivitas fisik selain olahraga adalah relatif sama pada setiap unit percobaan.

Tabel 6 Peubah, cara pengukuran dan analisis data

| No | Peubah                               | Cara Pengukuran                      | Analisis Data           |
|----|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| 1. | Konsumsi zat gizi                    | <i>Food recall</i>                   | Deskriptif              |
| 2. | Tingkat konsumsi energi dan zat gizi | Menggunakan DKBM dan AKG             | Deskriptif              |
| 3. | Kadar kalsium darah                  | Metode <i>endpoint</i>               | ANCOVA dan model linear |
| 4. | Kepadatan tulang                     | Menggunakan <i>bone densitometer</i> | ANCOVA dan model linear |

### Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh faktor (jenis susu, volume susu) dan peubah pengganggu (X) terhadap peubah respon (Y), data dianalisis dengan ANCOVA (*Analysis of Covariance*) dengan model sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + V_j(i) + \sum_{i=1}^p \beta_i X_i + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

- $Y_{ijk}$  = Peubah respon yang diukur
- $\mu$  = Rataan umum
- $S_i$  = Jenis susu ke-i (H dan F)
- $V_j$  = Volume susu ke-j (250 ml, 500 ml, 750 ml)
- $X_i$  = Peubah pengganggu yang diukur ke-i
- $\epsilon_{ijk}$  = Galat percobaan
- $i$  = 1, 2
- $j$  = 1, 2, 3

Selanjutnya dilakukan analisis dengan pendekatan model linier melalui persamaan-persamaan sebagai berikut :

a. Persamaan model linier untuk kadar kalsium darah :

1.  $Y_8 = \beta_0 + \delta_1 F + \delta_2 F^2 + \delta_3 F^3 + \beta_8 X_8 + \beta_{13} X_{13} + \beta_{17} X_{17} + \beta_{20} X_{20} + \beta_{24} X_{24} + \beta_{27} X_{27} + \beta_{31} X_{31} + \epsilon$
2.  $Y_8 = \beta_0 + \gamma_1 H + \gamma_2 H^2 + \gamma_3 H^3 + \beta_8 X_8 + \beta_{13} X_{13} + \beta_{17} X_{17} + \beta_{20} X_{20} + \beta_{24} X_{24} + \beta_{27} X_{27} + \beta_{31} X_{31} + \epsilon$

b. Persamaan umum model linier untuk kepadatan tulang (pinggang, punggung, kepala, lengan, rusuk, panggul, kaki).

$$1. Y_i = \beta_0 + \delta_1 F + \delta_2 F^2 + \delta_3 F^3 + \beta_i X_i + \beta_9 X_9 + \dots + \beta_{31} X_{31} + \varepsilon$$

$$2. Y_i = \beta_0 + \gamma_1 H + \gamma_2 H^2 + \gamma_3 H^3 + \beta_i X_i + \beta_9 X_9 + \dots + \beta_{31} X_{31} + \varepsilon$$

Keterangan :

|                         |   |  |
|-------------------------|---|--|
| $Y_i$                   | = | Peubah respon ke $i$ yang diukur ( $i = 1, 2, 3, \dots, 9$ )   |
| $\beta_0$               | = | Intersep   |
| $\delta, \gamma, \beta$ | = | Parameter koefisien regresi ( $\delta = 1, 2, 3$ ; $\gamma = 1, 2, 3$ ; $\beta = 1, 2, 3, \dots, 31$ ) |
| $F$                     | = | Susu segar   |
| $H$                     | = | Susu berkalsium tinggi   |
| $Y_1$                   | = | Kepadatan tulang pinggang akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_2$                   | = | Kepadatan tulang kepala akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_3$                   | = | Kepadatan tulang lengan akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_4$                   | = | Kepadatan tulang kaki akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_5$                   | = | Kepadatan tulang punggung akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_6$                   | = | Kepadatan tulang rusuk akhir ( $g/cm^2$ )  |
| $Y_7$                   | = | Kepadatan tulang panggul akhir ( $g/cm^2$ )  |
| $Y_8$                   | = | Kadar kalsium darah akhir ( $g/cm^2$ )   |
| $Y_9$                   | = | Indeks Massa Tubuh (IMT) akhir ( $kg/m^2$ )  |
| $X_1$                   | = | Kepadatan tulang pinggang awal ( $g/cm^2$ )  |
| $X_2$                   | = | Kepadatan tulang kepala awal ( $g/cm^2$ )  |
| $X_3$                   | = | Kepadatan tulang lengan awal ( $g/cm^2$ )  |
| $X_4$                   | = | Kepadatan tulang kaki awal ( $g/cm^2$ )  |
| $X_5$                   | = | Kepadatan tulang punggung awal ( $g/cm^2$ )  |
| $X_6$                   | = | Kepadatan tulang rusuk awal ( $g/cm^2$ )   |
| $X_7$                   | = | Kepadatan tulang panggul awal ( $g/cm^2$ )   |
| $X_8$                   | = | Kadar kalsium darah awal (mg/dl)   |
| $X_9$                   | = | Indeks Massa Tubuh (IMT) awal ( $kg/m^2$ )   |
| $X_{10}$                | = | Aktivitas olahraga (jam/hari)  |
| $X_{11}$                | = | Tingkat konsumsi energi total (% AKG)  |
| $X_{12}$                | = | Tingkat konsumsi protein total (% AKG)   |
| $X_{13}$                | = | Tingkat konsumsi kalsium total (% AKG)   |
| $X_{14}$                | = | Tingkat konsumsi fosfor total (% AKG)  |
| $X_{15}$                | = | Tingkat konsumsi besi total (% AKG)  |
| $X_{16}$                | = | Tingkat konsumsi vitamin C total (% AKG)   |
| $X_{17}$                | = | Tingkat konsumsi vitamin D total (% AKG)   |
| $X_{18}$                | = | Kontribusi energi susu perlakuan (% AKG)   |
| $X_{19}$                | = | Kontribusi protein susu perlakuan (% AKG)  |
| $X_{20}$                | = | Kontribusi kalsium susu perlakuan (% AKG)  |

|                 |   |   |
|-----------------|---|---|
| X <sub>21</sub> | = | Kontribusi fosfor susu perlakuan (% AKG)    |
| X <sub>22</sub> | = | Kontribusi besi susu perlakuan (% AKG)      |
| X <sub>23</sub> | = | Kontribusi vitamin C susu perlakuan (% AKG) |
| X <sub>24</sub> | = | Kontribusi vitamin D susu perlakuan (% AKG) |
| X <sub>25</sub> | = | Tingkat konsumsi energi non-susu (% AKG)    |
| X <sub>26</sub> | = | Tingkat konsumsi protein non-susu (% AKG)   |
| X <sub>27</sub> | = | Tingkat konsumsi kalsium non-susu (AKG)     |
| X <sub>28</sub> | = | Tingkat konsumsi fosfor non-susu (% AKG)    |
| X <sub>29</sub> | = | Tingkat konsumsi besi non-susu (% AKG)      |
| X <sub>30</sub> | = | Tingkat konsumsi vitamin C non-susu (% AKG) |
| X <sub>31</sub> | = | Tingkat konsumsi vitamin D non-susu (% AKG) |
| ε               | = | Galat percobaan                             |

Apabila dari hasil analisis model linier diperoleh pengaruh nyata perlakuan terhadap peubah respon, maka dilanjutkan uji beda dengan pendekatan selang kepercayaan 95% sebagai berikut :

$$\bar{y} - t_{\frac{\alpha}{2}}(v) \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \bar{Y} \leq \bar{y} + t_{\frac{\alpha}{2}}(v) \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Keterangan :

$\bar{y}$  = Rata-rata nilai peubah respon

n = Jumlah ulangan

$\bar{Y}$  = Parameter nilai tengah

$t_{\frac{\alpha}{2}}$  = Nilai dari tabel distribusi-t

v = Derajat bebas (v = db galat)

Pengolahan data deskriptif dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel 2003. Pengolahan data untuk Ancova dan model linier dilakukan dengan menggunakan *software* SAS for Windows versi 6.12 dan Microsoft Excel 2003.

### **Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini mempunyai beberapa keterbatasan, yaitu :

1. Tidak dilakukan *screening* terhadap kadar kalsium darah dan kepadatan tulang unit percobaan sebelum penelitian dilakukan sehingga kadar kalsium darah dan kepadatan tulang unit percobaan yang diperoleh sebelum penelitian beragam.

2. Tidak dilakukan pengontrolan terhadap konsumsi pangan selain perlakuan pemberian susu berkalsium tinggi dan susu segar.
3. Tidak dilakukan analisis terhadap kadar kalsium yang keluar bersama urin dan feses, sehingga tidak diketahui berapa banyak kalsium yang dapat diserap oleh tubuh.

### **Batasan Istilah**

#### **Susu**

Susu adalah produk normal dari sekresi kelenjar susu ternak perah berbentuk cair dan berwarna putih atau kekuning-kuningan. Dalam penelitian ini susu yang digunakan adalah susu sapi perah berupa cairan yang telah disterilisasi melalui proses pemanasan UHT (*Ultra High Temperature*) dan dikemas dalam tempat khusus serta telah diperdagangkan kepada masyarakat (produk komersial). Susu yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua jenis yaitu susu berkalsium tinggi (*high calcium*) dan susu segar (*fresh milk*).

- Susu berkalsium tinggi : yaitu berupa susu komersial yang mempunyai klaim sebagai susu berkalsium tinggi dengan kandungan kalsium 327,5 mg per ukuran saji (250 ml).
- Susu segar : yaitu berupa susu komersial yang mempunyai klaim sebagai susu segar dan hanya mempunyai kandungan kalsium 270 mg per ukuran saji (250 ml).

#### **Konsumsi Zat Gizi**

Konsumsi zat gizi adalah jumlah dan jenis zat gizi dari makanan yang dikonsumsi dan diukur melalui metode *recall* 1 X 24 jam dalam satuan ukuran rumah tangga, selanjutnya ditransformasikan dalam bentuk satuan gram dan satuan dari setiap zat gizi yang diteliti. Perhitungan jumlah zat gizi yang terkandung dari setiap bahan makanan dihitung berdasarkan Daftar Komposisi Bahan Makanan (DKBM). Dalam penelitian ini yang dimaksud dengan konsumsi zat gizi adalah jumlah dan jenis zat gizi dari makanan yang dikonsumsi oleh unit percobaan selama penelitian berlangsung, diukur melalui metode *recall* 1X 24 jam dalam satuan ukuran rumah tangga, selanjutnya ditransformasikan dalam bentuk satuan gram

dan satuan dari setiap zat gizi yang diteliti. Pengambilan data dilakukan pada awal, tengah dan akhir bulan selama penelitian berlangsung.

### **Tingkat Konsumsi Zat Gizi**

Tingkat konsumsi zat gizi adalah perbandingan jumlah zat gizi atau energi yang dikonsumsi terhadap angka kecukupan gizi yang dianjurkan (% AKG). Dalam penelitian ini yang dimaksud dengan tingkat konsumsi zat gizi adalah perbandingan antara jumlah zat gizi atau energi yang dikonsumsi unit percobaan terhadap angka kecukupan gizi yang dianjurkan (% AKG) untuk remaja pria.

### **Indeks Massa Tubuh (IMT)**

Indeks Massa Tubuh (IMT) adalah kondisi status gizi yang dilihat dari perbandingan berat badan (BB) dan tinggi badan (TB). IMT adalah indikator status gizi terbaik untuk remaja. Dalam penelitian ini IMT digunakan sebagai dasar untuk memilih unit percobaan yang akan digunakan dalam penelitian. Unit percobaan yang dipilih adalah yang mempunyai  $IMT < 18,5$ .

### **Kadar kalsium darah**

Kadar kalsium darah adalah jumlah zat kalsium yang terdapat pada serum ataupun plasma darah dalam satuan mg/dl. Dalam penelitian ini yang dimaksud dengan kadar kalsium darah adalah jumlah zat kalsium yang terdapat pada serum darah unit percobaan dalam satuan mg/dl yang diukur dengan metode *endpoint*.

### **Kepadatan tulang**

Kepadatan tulang adalah jumlah kandungan mineral tulang dalam setiap  $cm^2$  tulang yang diukur dengan alat *bone densitometer*. Kepadatan tulang pada masa remaja dapat menentukan risiko osteoporosis saat usia lanjut. Dalam penelitian ini kepadatan tulang pada unit percobaan diukur dengan alat *bone densitometer*. Kepadatan tulang yang diukur adalah kepadatan tulang bagian pinggang, punggung, kepala, lengan, rusuk, panggul dan bagian kaki.

