

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

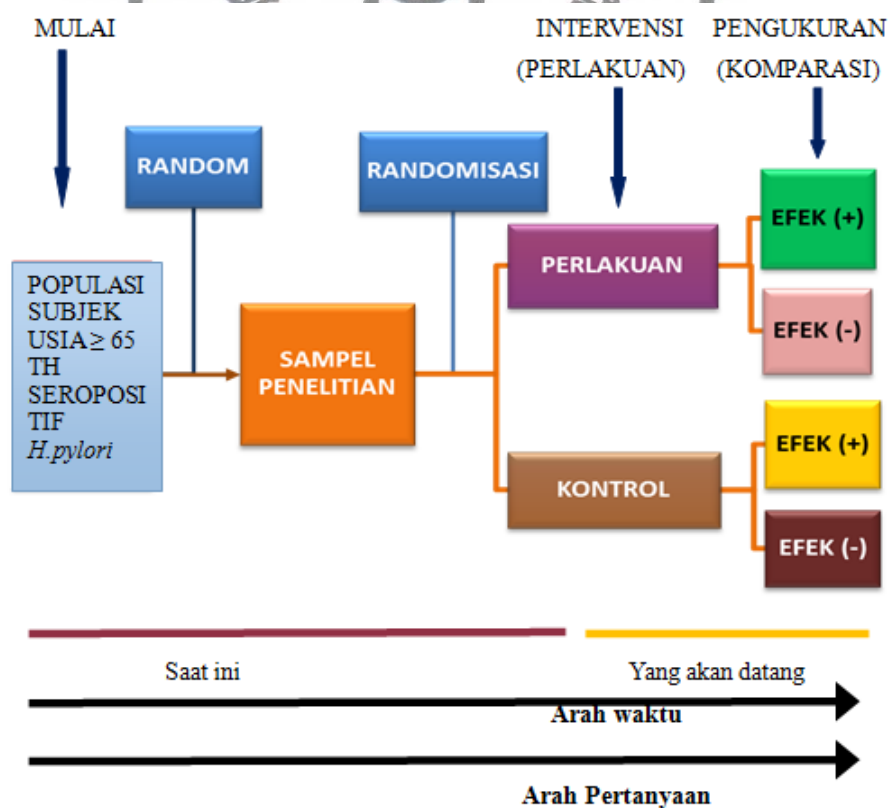
Penelitian dilaksanakan di Pos Lansia Kelurahan Nusukan Surakarta. Tempat pemeriksaan serum dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNS dan Laboratorium Kimia Klinik STIKES Nasional Surakarta.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian bulan Agustus sampai Desember 2018.

B. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan rancangan *double blind randomised controlled trial*.



Gambar 4.1 Bagan Desain Penelitian

Keterangan :

Penelitian dimulai dengan penetapan populasi sumber yang terdiri subjek-subjek yang masuk dalam kriteria inklusi. Penetapan sampel penelitian dengan tehnik *multistage* random. Penetapan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan randomisasi. Pemberian intervensi atau perlakuan berupa pemberian suplemetasi jamur tiram putih. Pengukuran efek perlakuan pada masing-masing subjek penelitian. Arah pertanyaan prospektif dengan arah waktu penelitian dimulai saat ini dan di akhiri pada masa yang akan datang.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi target penelitian ini adalah lansia berusia lebih dari 65 tahun dan seropositif *H. pylori*. Populasi terjangkau adalah lansia berusia 65 tahun dengan seropositif *H. pylori* yang termasuk peserta aktif pos lansia Nusukan berjumlah 134 orang.
2. Sampel penelitian adalah lansia usia lebih dari 65 tahun dan seropositif *H. pylori* hasil *multistage random sampling* berjumlah 93 orang. Subjek penelitian harus sudah menandatangani *informed consent* dengan kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :
 - a. Dalam kondisi sakit yang memerlukan tirah baring
 - b. Tidak bisa mandiri dalam activity daily living (ADL)
 - c. Merokok
 - d. Minum alkohol
 - e. Dalam pengobatan obat tiroid
 - f. Dalam pengobatan hipertensi
 - g. Dalam pengobatan antibiotik

D. Besar Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n1 = n2 = n3 = \frac{2 \sigma^2 (Z1 - \frac{\alpha}{2} + Z1 - \beta)^2}{(\mu1 - \mu2)^2}$$

(Bonita et al., 2006).

Keterangan :

n = besar sampel

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai pada distribusi normal standar yang sama dengan tingkat kemaknaan $\alpha = 1.96$ ($\alpha = 0.05$)

$Z_{1-\beta}$ = nilai pada distribusi normal standar yang sama dengan kuasa (power) sebesar diinginkan (untuk $\beta = 0.10$ adalah 1.28)

σ = standar deviasi kesudahan (outcome)

μ_1 = mean outcome kelompok kontrol

μ_2 = mean outcome kelompok intervensi

Sehingga apabila dimasukkan rumus didapatkan besar sampel adalah sebagai berikut :

$$n_1=n_2=n_3 = \frac{2 \times (27.71)^2 (1.96 + 1.28)^2}{(152.13 - 116.00)^2}$$

$$n_1=n_2=n_3 = \frac{2 \times 767.8 \times 10.5}{1317.69}$$

$$n = 12$$

Jumlah sampel penelitian yang dibutuhkan adalah 12 orang. Sebagai antisipasi *non compliance* maka jumlah sampel dimasukkan rumus

Non Response Rate (L) = 30 %. maka = $n' = \frac{n}{(1-L)}$

$$n' = \frac{12}{(1-0.3)}$$

$$n' = 17$$

sehingga jumlah sampel penelitian total adalah : $n_{\text{total}} = n + n' = 12 + 17 = 29$

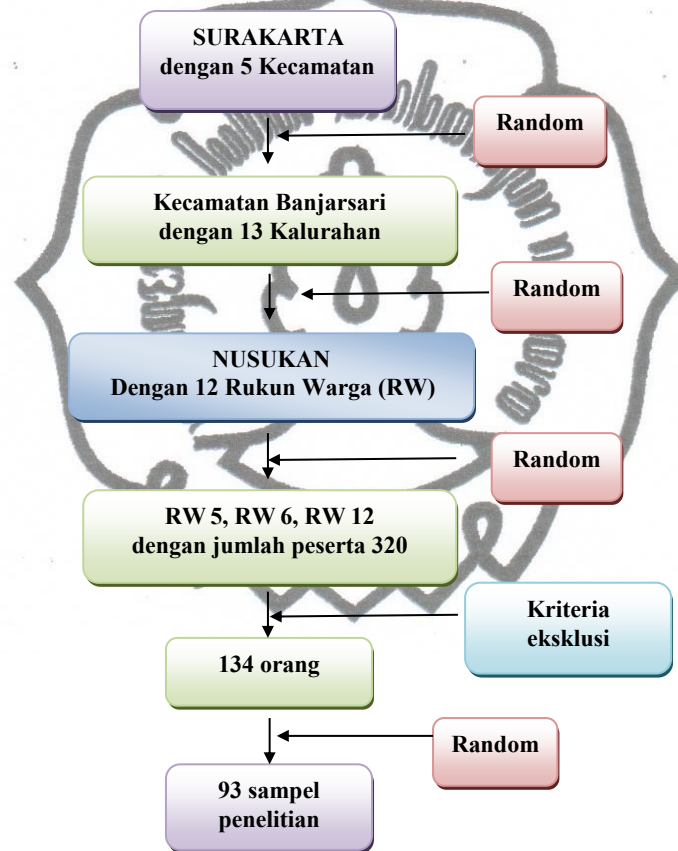
Jumlah subjek penelitian untuk masing-masing kelompok adalah 29 orang. Kelompok perlakuan ada 3 jadi dibutuhkan minimal sampel adalah 87 subjek penelitian.

E. Teknik pengambilan sampel

Teknik sampling menggunakan *multistage random sampling* dari tingkat Kota Surakarta hingga didapatkan Kelurahan Nusukan yang terdiri dari 12 Rukun Warga (RW). Hasil random didapatkan 3 RW yang terpilih yaitu RW 5, 6 dan 12 dengan jumlah peserta pos lansia

aktif terdata adalah 320 orang. Jumlah lansia dengan usia lebih dari 65 tahun ke atas serta seropositif *Helicobacter pylori* dan tidak memenuhi kriteria eksklusi adalah 134 orang.

Jumlah minimal sampel penelitian berdasarkan hasil perhitungan rumus besar sampel adalah sebanyak 87 orang. Total sampel penelitian adalah 93 orang, yang terbagi dengan randomisasi menjadi 31 orang Kelompok I, 31 orang Kelompok 2 dan 31 orang kelompok 3.



Gambar 4.2 Teknik sampling *Multiple Random Sampling*

A. Variabel Penelitian

Identifikasi variabel penelitian adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas :
 - a. Suplementasi jamur tiram putih

2. Variabel tergantung

- a. Indek *Ig G H. pylori*
- b. Kadar *COX-2*
- c. Kadar FT3
- d. Kadar LDL
- e. Kadar HDL
- f. Kadar trigliserid
- g. Kadar kolesterol total

3. Variabel Terkendali

- a. Usia responden di atas 65 tahun
- b. Aktif dan tidak sedang tirah baring
- c. Mandiri dalam ADL
- d. Merokok
- e. Minum alkohol
- f. Tidak dalam pengobatan kolesterol
- g. Tidak dalam pengobatan tiroid

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Indek *Ig G H. pylori* adalah angka yang menunjukkan jumlah antibodi G terhadap antigen *H.pylori* yang ada di serum darah. Pemeriksaan dilakukan dengan metode ELISA. Hasil dikatakan seropositif apabila nilai hasil pemeriksaan ≥ 2 .

Alat ukur : *ELISA reader* secara serologi metode ELISA

Satuan : konstanta

Skala data : rasio

2. Suplementasi jamur tiram putih adalah pemberian bahan tambahan makanan atau suplemen dari serbuk kering jamur tiram putih yang telah dimasukkan ke dalam kapsul dengan berat 500

mg dan 1000mg, dan dikonsumsi 1 x sehari 1 kapsul pada pagi hari sebelum sarapan. Metode adalah ekstraksi kasar lalu kapsulasi.

Alat ukur : timbangan

Satuan : mg

Skala data : nominal

3. Suplementasi Plasebo adalah pemberian bahan tambahan makanan atau suplemen yang berisi bahan tidak memberikan pengaruh apa-apa terhadap variabel terikat yang akan diteliti. dosis 500 mg per kapsul serta dikonsumsi 1 kali sehari 1 kapsul pada pagi hari 1 jam sebelum makan (ketika perut kosong).

Alat ukur : timbangan

Satuan : mg

Skala data : nominal

4. Kadar *COX-2* adalah kadar *COX-2* yang ada dalam serum darah, menggambarkan jumlah ekspresi protein dari *COX 2* sebagai biomarker inflamasi. Pemeriksaan menggunakan metode ELISA.

Alat ukur : *ELISA reader*

Satuan : ng/mL

Skala data : rasio

5. Kadar FT3 adalah jumlah kadar hormon FT3 yang ada dalam serum darah, merupakan hormon tiroid T3 yang bebas, serta menggambarkan kinerja metabolik berhubungan dengan metabolisme lipid (biomarker metabolik). Pemeriksaan menggunakan metode ELISA.

Alat ukur : *ELISA reader*

Satuan : ng/mL

Skala data : rasio

6. Kadar LDL adalah kadar lipoprotein LDL yang diperiksa pada saat puasa dengan sampel serum darah, menggambarkan kinerja

metabolisme lipid dalam tubuh (biomarker metabolik). Pemeriksaan menggunakan metode enzimatis CHOD-PAP. Pengukuran berdasarkan nilai absorbansi dan dibaca pada panjang gelombang 450 nm. Nilai normal kadar LDL adalah < 130 mg/dL (kurang dari 130 mg/dL).

Alat ukur : Fotometer

Satuan : mg/dL

Skala data : rasio

7. Kadar HDL adalah kadar lipoprotein HDL pada saat puasa, dari sampel serum darah, menggambarkan kinerja metabolisme lipid (biomarker metabolik). Pemeriksaan menggunakan metode enzimatis CHOD-PAP. Pengukuran berdasarkan nilai absorbansi dan dibaca pada panjang gelombang 450 nm. Nilai normal kadar HDL adalah > 35 mg/dL (lebih dari 35 mg/dL).

Alat ukur : Fotometer

Satuan : mg/dL.

Skala data : rasio

8. Kadar trigliserid adalah kadar triasilgliserol pada saat puasa, dari sampel serum darah, serta menggambarkan kinerja metabolisme lipid (biomarker metabolik). Pemeriksaan menggunakan metode enzimatis GPO-PAP. Pengukuran berdasarkan nilai absorbansi dan dibaca pada panjang gelombang 450 nm. Nilai normal kadar trigliserid adalah < 150 mg/dL (kurang dari 150 mg/dL).

Alat ukur : Fotometer

Satuan : mg/dL

Skala data : rasio

9. Kadar kolesterol total adalah kadar kolesterol pada saat puasa, dari sampel serum darah, serta menggambarkan kinerja metabolisme lipid (biomarker metabolik). Pemeriksaan menggunakan metode enzimatis CHOD-PAP. Pengukuran

berdasarkan nilai absorbansi dan dibaca pada panjang gelombang 450 nm. Nilai normal kadar kolesterol total adalah ≤ 200 mg/dL (kurang dari dan atau sama dengan 200 mg/dL).

Alat ukur : Fotometer

Satuan : mg/dL

Skala data : rasio

H. Cara Kerja

1. Kuesioner

Subjek penelitian masing-masing telah dilakukan wawancara secara pribadi dengan instrumen kuesioner untuk mendapatkan data penelitian berupa:

- a. Data responden penelitian : nama, usia, jenis kelamin
- b. Pengukuran berat badan, tinggi badan dan tekanan darah
- c. Riwayat penyakit responden
- d. Riwayat pengobatan

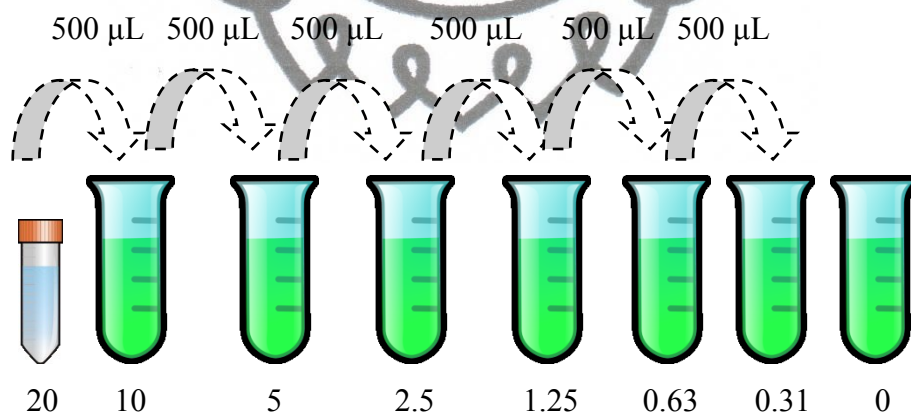
2. Pemeriksaan kadar protein *COX 2*

a. Persiapan reagen dan sampel

- 1) Pengambilan darah dilakukan menggunakan *vacum tube* plastik tanpa koagulan. Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1500-2000 rpm selama 10-15 menit untuk memperoleh serum darah. Serum ditempatkan pada tabung serologi dan disimpan pada suhu 4°C. Sebelum dilakukan pemeriksaan, serum dikeluarkan dari lemari pendingin dan dikondisikan pada suhu ruang.
- 2) Kit ELISA untuk pemeriksaan *COX 2* dikeluarkan dari *freezer* dan dikondisikan pada suhu ruangan. Kit dari *ElabScience®*.
- 3) Dipersiapkan *washing buffer* dengan *washer concentrate* diencerkan dengan aquabidest murni dengan pengenceran 25

kali.

4) Dipersiapkan *standart solution* dalam berbagai konsentrasi. *reference standart & sample diluent* ditambahkan 1 ml. Dibiarkan 10 menit dan dibolak-balikkan dengan halus. Campuran ini merupakan larutan standart konsentrasi 20 ng/ml. Kemudian dibuat serangkaian pengenceran yang diperlukan yaitu 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0 ng/ml. Diambil 7 tabung dan ditambahkan masing-masing 500 μ L *reference standart & sample diluent*. Dipipet 500 μ L dari larutan konsentrasi 20 ng/ml lalu dimasukkan dalam tabung pertama. Dicampur dengan sempurna dan jadilah larutan standart konsentrasi 10 ng/ml. Dipipet 500 μ L dari larutan konsentrasi 10 ng/ml lalu dimasukkan dalam tabung kedua. Dicampur sempurna dan jadilah larutan standart konsentrasi 5 ng/ml. Demikian seterusnya hingga tabung ke 6. Tabung ke 7 hanya berisi 500 μ L *reference standart & sample diluent* saja, sebagai blanko.



Gambar 4.3 Ilustrasi pengenceran larutan standar pemeriksaan COX 2

- 5) Dipersiapkan larutan *biotinylated detection Ab* dengan konsentrasi *biotinylated detection Ab* diencerkan sebanyak 100 kali dengan *biotinylated detection Ab diluent*. Larutan ini harus siap 15 menit sebelum prosedur tahap 1 selesai.
- 6) Dipersiapkan larutan *concentrate HRP conjugate* dengan cara

konsentrat *concentrate HRP conjugate* diencerkan dengan *concentrate HRP conjugate diluent* sebanyak 100 kali. Larutan ini harus selesai 15 menit sebelum tahap 2 selesai.

7) *Microplate reader* dipanaskan saat tahap 6 mulai.

b. Tahapan prosedur pemeriksaan

- 1) Ditambahkan larutan standart sebanyak 100 μ L pada dua kolom pertama dari *microplate*. Masing-masing konsentrasi ditambahkan secara duplo dan berdampingan. Mulai dari konsentrasi tertinggi hingga terendah. Ditambahkan sampel pada sumur yang lain sebanyak 100 μ L untuk masing-masing sumur. Tiap sampel ditambahkan secara duplo dan berdampingan. *Plate* ditutup dengan *sealer*. Diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C.
- 2) Cairan dibuang dari masing-masing sumuran tapi tidak dicuci. Segera ditambahkan dengan larutan *Biotinylated Detection Ab* sebanyak 100 μ L untuk masing-masing sumuran. Ditutup dengan *plate sealer*. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.
- 3) Dibuang cairan dan dicuci dengan *wash buffer* menggunakan *ELISA Washer*. Dicuci sebanyak 3 kali.
- 4) Ditambahkan 100 μ L larutan *Concentrate HRP Conjugate* pada masing-masing sumuran. *Plate* ditutup dengan *sealer*. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- 5) Cairan dibuang dan dicuci dengan *wash buffer* dengan *ELISA Washer*. Dicuci sebanyak 5 kali.
- 6) Ditambahkan 90 μ L *Substrate Reagent* pada masing-masing sumuran. Ditutup dengan *plate sealer*. Diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Dilindungi dari sinar.
- 7) Ditambahkan 50 μ L *Stop Solution* pada masing-masing sumuran.
- 8) *OD Value* dibaca pada panjang gelombang 450 nm.

3. Pemeriksaan *free Triiodothyronine (fT3)*

Digunakan metode *Enzyme Immunoassay* menggunakan kit dari

BIOS®(Chemux Bioscience Inc.).

a. Preparasi reagen dan sampel

- 1) Seluruh reagen dikondisikan pada suhu ruangan 18-25°C sebelum dilakukan pemeriksaan.
- 2) Dipersiapkan *Wash Buffer*. Diencerkan *wash concentrate* dengan 1000 mL aquades distiled.
- 3) Dipersiapkan *substrate solution*. Dicampurkan *substrate A* dan *substrate B* dengan perbandingan yang sama. Dihitung kebutuhan *substrate solution* untuk seluruh sumuran. Sebagai panduan 1 mL *substrate A* dan 1 mL *substrate B* cukup untuk 2 kolom pertama dari 8 deret. Jadi untuk 12 kolom 8 deret, membutuhkan 6 mL *substrate A* dan 6 mL *substrate B*.

b. Tahapan prosedur pemeriksaan

- 1) *Microplate* diatur untuk *standart reference*, *control* dan sampel serum. Masing-masing duplo.
- 2) Dipipet 50 µL *standart reference*, *control positive*, *control negative* dan sampel serum. Masing-masing duplo.
- 3) Ditambahkan 100 µL *fT3-enzyme conjugate solution*. Campur dengan sempurna selama 20-30 detik dan bisa menggunakan alat rotator.
- 4) Plate ditutup
- 5) Diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruangan.
- 6) Diaspirasi cairan dan dikeringkan dengan *absorbent paper*.
- 7) Dicuci sebanyak 3 kali menggunakan *ELISA washer* dengan *wash buffer solution*.
- 8) Ditambahkan 100 µL *substrate solution* pada masing-masing sumuran.
- 9) Diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan.
- 10) Ditambahkan 50 µL *stop solution*. Campur dengan baik selama 15-20 detik.

- 11) Absorbansi dibaca pada masing-masing sumuran pada panjang gelombang 450 nm.

4. Pemeriksaan *LDL*

Digunakan metode *Enzymatic Immunoassay photometer*

a. Preparasi sampel dan reagen

- 1) Dipersiapkan sampel, standar dan blanko pada suhu ruangan.
- 2) Dihidupkan alat photometer 5010 dan set pada panjang gelombang 546 nm, faktor 200, Program C/ST.

b. Prosedur pemeriksaan

- 1) Dicampurkan 1000 μL standart, 1000 μL sampel dan 1000 μL blanko. Dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Larutan ini sebagai blanko reagen.
- 2) Disiapkan 10 μL sampel. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 3) Disiapkan 10 μL standar. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 4) Absorbansi sampel dibaca atau standar terhadap blanko reagen dalam waktu 60 menit pada panjang gelombang 546 nm.

5. Pemeriksaan *HDL*

Digunakan metode *Enzymatic Immunoassay photometer CHOD-PAP*

a. Preparasi sampel dan reagen

- 1) Dipersiapkan sampel, standar dan blanko pada suhu ruangan.
- 2) Dihidupkan alat photometer 5010 dan set pada panjang gelombang 546 nm, faktor 200, Program C/ST.

b. Prosedur pemeriksaan

- 1) Dicampurkan 1000 μL standart, 1000 μL sampel dan 1000 μL blanko. Dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-

25°C. Larutan ini sebagai blanko reagen.

- 2) Disiapkan 10 μL sampel. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 3) Disiapkan 10 μL standar. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 4) Absorbansi sampel dibaca atau standar terhadap blanko reagen dalam waktu 60 menit pada panjang gelombang 546 nm.

6. Pemeriksaan Trigliserida

Pemeriksaan kadar Trigliserida digunakan metode *Enzymatic Immunoassay Photometer*.

a. Preparasi sampel dan reagen

- 1) Dipersiapkan sampel, standar dan blanko pada suhu ruangan.
- 2) Dihidupkan alat photometer 5010 dan set pada panjang gelombang 546 nm, faktor 200. Program C/ST.

b. Prosedur pemeriksaan

- 1) Dicampurkan 1000 μL standart, 1000 μL sampel dan 1000 μL blanko. Dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Larutan ini sebagai blanko reagen.
- 2) Disiapkan 10 μL sampel. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 3) Disiapkan 10 μL standar. Diinkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.
- 4) Dibaca absorbansi sampel atau standar terhadap blanko reagen dalam waktu 60 menit pada panjang gelombang 546 nm.

7. Pemeriksaan Kolesterol Total

Pemeriksaan kadar Kolesterol digunakan metode *Enzymatic Immunoassay Photometer*.

a. Preparasi sampel dan reagen

- 1) Dipersiapkan sampel, standar dan blanko pada suhu ruangan.

2) Dihidupkan alat photometer 5010 dan set pada panjang gelombang 546 nm, faktor 200. Program C/ST.

b. Prosedur pemeriksaan

1) Dicampurkan 1000 μ L standart, 1000 μ L sampel dan 1000 μ L blanko. Dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Larutan ini sebagai blanko reagen.

2) Disiapkan 10 μ L sampel. Inkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.

3) Disiapkan 10 μ L standar. Inkubasi 10 menit pada suhu 20-25°C.

4) Dibaca absorbansi sampel atau standar terhadap blanko reagen dalam waktu 60 menit pada panjang gelombang 546 nm.

8. Pemeriksaan kadar Ig G *Helicobacter pylori*

Digunakan metode *Enzyme Immunoassay* menggunakan kit dari BIOS®(Chemux Bioscience Inc.).

a. Preparasi reagen dan sampel

1) Seluruh reagen dikondisikan pada suhu ruangan 18-25°C sebelum dilakukan pemeriksaan.

2) Dipersiapkan *Wash Buffer*. Diencerkan *wash concentrate* 10 kali dengan aquades distiled hingga volume larutan 1000 mL

3) Dipersiapkan pengenceran sampel 1:40 dengan ditambahkan 5 μ L sampel pada 200 μ L *sample diluent*. Dicampur dengan baik.

4) Dipersiapkan pengenceran kontrol negatif 1:40 dengan ditambahkan 5 μ L kontrol negatif pada 200 μ L *sample diluent*. Dicampur dengan baik.

5) Dipersiapkan pengenceran kontrol positif 1:40 dengan ditambahkan 5 μ L kontrol positif pada 200 μ L *sample diluent*. Dicampur dengan baik.

6) Dipersiapkan pengenceran kalibrator 1:40 dengan ditambahkan 5 μ L kalibrator pada 200 μ L *sample diluent*. Dicampur dengan baik.

b. Tahapan prosedur pemeriksaan

- 1) *Microplate* diatur untuk *standart reference*, *control* dan sampel serum. Masing-masing duplo.
- 2) Dipipet 100 μL *calibrator*, *control positive*, *control negative* dan sampel serum yang telah diencerkan pada masing-masing sumuran. Masing-masing duplo.
- 3) Ditambahkan 100 μL *sample dilution* pada kolom 1 A dan 2A sebagai blanko.
- 4) Plate ditutup
- 5) Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan.
- 6) Diaspirasi cairan dan dikeringkan dengan *absorbent paper*.
- 7) Dicuci sebanyak 3 kali, dipakai *ELISA washer* dengan *wash buffer solution*.
- 8) Ditambahkan 100 μL *enzyme conjugate* pada masing-masing sumuran.
- 9) Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan.
- 10) Diaspirasi cairan dan dikeringkan dengan *absorbant paper*
- 11) Dicuci sebanyak 3 kali, digunakan *ELISA washer* dengan *wash buffer solution*.
- 12) Ditambahkan 100 μL *TBM Chromogenic substrate solution* pada masing-masing sumuran.
- 13) Diinkubasi 15 menit pada suhu ruangan.
- 14) Ditambahkan 100 μL *stop solution*. Dicampur dengan baik selama 15-20 detik.
- 15) Dibaca absorbansi pada masing-masing sumuran pada panjang gelombang 450 nm.

9. Preparasi suplemen jamur tiram putih

a. Pemanenan

Tahap ini merupakan yang paling penting dimana dipilih jamur

tiram putih siap panen yang baik dan layak konsumsi. Kondisi fisik perlu dilakukan pengamatan meliputi warna, konsistensi dan bau.

b. Pembuatan serbuk kering jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*)

Setelah pemanenan untuk pembuatan serbuk kering maka dilakukan prosedur sebagai berikut :

- 1) Sortasi basah
- 2) Perajangan
- 3) Pengeringan dengan menggunakan oven suhu 45 °C
- 4) Sortasi kering
- 5) Penggilingan serbuk
- 6) Pengemasan

c. Standarisasi serbuk kering parameter non spesifik

Standarisasi adalah serangkaian proses menjamin bahwa produk mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu. Tujuannya agar diperoleh benak bahan baku atau bahan kefarmasian yang bermutu, aman serta bermanfaat.

Parameter non spesifik adlah segala aspek yang tidak terkait dengan aktivitas farmakologis secara langsung, namun mempengaruhi aspek keamanan dan stabilitas serbuk yang dihasilkan.

Standarisasi *simplisia* merupakan syarat yang harus dipenuhi serbuk kering jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yaitu

1) Penetapan kadar air

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, dilakukan dengan cara titrasi, destilasi maupun gravimetri. Adapun tujuannya untuk memberikan batasan minimal tentang besarnya kandungan air di dalam bahan.

2) Penetapan kadar abu

Tujuannya untuk memberikan gambaran kandungan mineral

internal dan eksternal yang berasal proses awal sampai terbentuk serbuk. Bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik.

- 3) Cemaran mikroba
- 4) Cemaran logam berat
- 5) Cemaran pestisida
- 6) Penetapan kadar aflatoksin

Tabel. 4.1 Hasil Analisis Makroskopis Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*)

Parameter	Hasil	Harga Normal
Penampakan	Normal	-
Bentuk	Serbuk	-
Tekstur	Halus	-
Warna	Putih kecoklatan	-
Rasa	Sedikit pahit	-
Bau	Normal	-

Ket :

Hasil pemeriksaan makroskopis jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) menunjukkan bahwa penmpakan, bentuk, tekstur, warna, rasa dan bau adalah normal. Hal ini menunjukkan bahwa sampe jamur tiram putih dalam kondisi layak untuk dilakukan pengerjaan selanjutnya. Sampel jamur tiram putih selanjutnya dilakukan analisis non spesifik. Hasil pemeriksaan ini juga mengindikasikan bahwa sampel jamur tiram putih layak dikonsumsi.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Non Spsifik *Simplisia* Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*)

Parameter	Unit	Hasil	Harga Normal
Kadar Air	%	1,9	-

Kadar Abu	%	2.0	-
Cemaran Mikroba			
<i>Staphylococcus aureus</i>	/g	Negatif	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/g	Negatif	-
<i>Salmonella sp.</i>	/g	Negatif	-
<i>Escherichia coli</i>	/g	Negatif	-
Cemaran residu pestisida	mg/g	Negatif	0,1
Cemaran Jamur dan Khamir			
Kapang khamir	Koloni/g	Negatif	-
ALT	Koloni/g	Negatif	-
Cemaran Logam Berat			
Pb	mg/kg	Negatif	0,009
Cd	mg/kg	Negatif	-
Hg	mg/kg	Negatif	0,004
As	mg/kg	Negatif	0.008
Cemaran Aflatoksin			
Aflatoksin G2	mcg/kg	Negatif	0,0183
Aflatoksin G1	mcg/kg	Negatif	0.022
Aflatoksin B2	mcg/kg	Negatif	0,0171
Aflatoksin B1	mcg/kg	Negatif	0,0202

Ket :

Hasil analisis non spesifik terhadap sampel jamur tiram putih menunjukkan hasil bahwa sampel jamur tiram putih tidak terkandung cemaran bakteri (mikroba), tidak mengandung cemaran residu, tidak mengandung cemaran khamir atau jamur. Hasil analisis menunjukkan kandungan logam berat tidak ada, juga tidak ditemukan adanya kandungan aflatoksin. Hasil pemeriksaan ini menyimpulkan bahwa sampel jamur tiram putih layak untuk dikonsumsi.

d. Standarisasi serbuk kering parameter spesifik

- 1) Penetapan kadar senyawa aktif larut air
- 2) Penetapan kadar senyawa aktif larut etanol
- 3) Penetapan kadar senyawa aktif kualitatif

4) Penetapan kadar senyawa aktif kuantitatif

Tabe; 4.3 Hasil Analisis Spesifik *Simplisia* Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*)

Parameter	Hasil Kualitatif	Hasil Kuantitatif *	Rujukan
β glucan	+	3,28 g/kg 1,03 g/100 gram	(Ariyanti, 2016) (Masitoh, 2016)
Flavonoid	+	1,56 mg/g	(Jeena et al., 2014)
Mevinolin	+	0,36 ppm	(Yunita et al., 2003)

Ket : * bukan hasil penelitian ini, tapi dari rujukan.

e. Formulasi kapsul suplementasi jamur tiram putih (*P. ostreatus*)

Serbuk kering jamur tiram putih dikemas dalam cangkang kapsul dengan dosis masing-masing 500 mg dan 1000mg. Kapsul-kapsul tersebut dimasukkan ke dalam botol plastik sejumlah 14 buah untuk tiap botol. Sebleum ditutup dengan tutup ulir, dilakukan pemasangan seal untuk menjaga higienitas kapsul serta diberikan silica gel untuk menjamin suasana dalm botol tidak berubah dan mempengaruhi sifat fisik maupun kimiawi dari kapsulnya.

10. Randomisasi

Subjek penelitian dilakukan randomisasi untuk menentukan anggota kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2.

11. Perlakuan

- Kelompok Kontrol : responden diberikan 500 mg kapsul placebo
- Kelompok perlakuan 1 : responden diberikan 500 mg kapsul ekstrak jamur tiram putih sekali sehari pada pagi hari sebelum sarapan, saat perut masih kosong selama 2 minggu.
- Kelompok perlakuan 2 : responden diberikan 1.000 mg kapsul ekstrak jamur tiram putih sekali sehari pada pagi hari sebelum sarapan, saat perut masih kosong selama 2 minggu.

I. Etika penelitian

Penulis mengajukan persetujuan penelitian ke Panitia Kelaikan Etik

Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, sebelum dilakukan penelitian. Setiap subjek penelitian diberikan penjelasan yang benar dan terperinci tentang tujuan, manfaat dan prosedur penelitian. Subjek diminta menandatangani lembar persetujuan dan isian data subjek penelitian, apabila subjek telah mengerti dan menyetujui menjadi responden penelitian ini. Subjek diberikan kebebasan sepenuhnya untuk berhenti sewaktu-waktu, tanpa syarat apapun.

J. Analisis data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan langkah-langkah :

a. Analisis Deskriptif.

Karakteristik data kontinyu meliputi jumlah (n), *mean*, *median*, standar deviasi, nilai maksimum dan nilai minimum. Juga mengetahui karakteristik data kategorikal meliputi jumlah (n) dan persentase.

b. Analisis normalitas data

Uji normalitas data *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas varians dengan *Levene's test*. digunakan sebagai persyaratan untuk melakukan pemilihan uji selanjutnya.

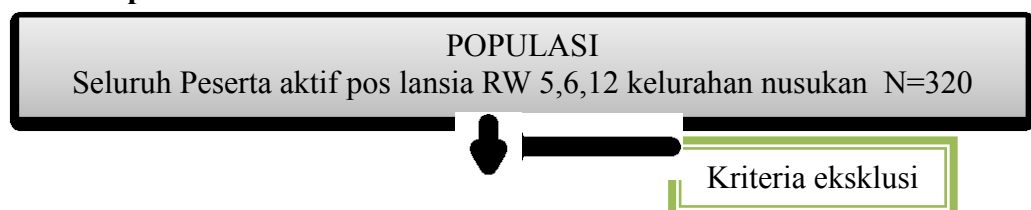
c. Analisis bivariat

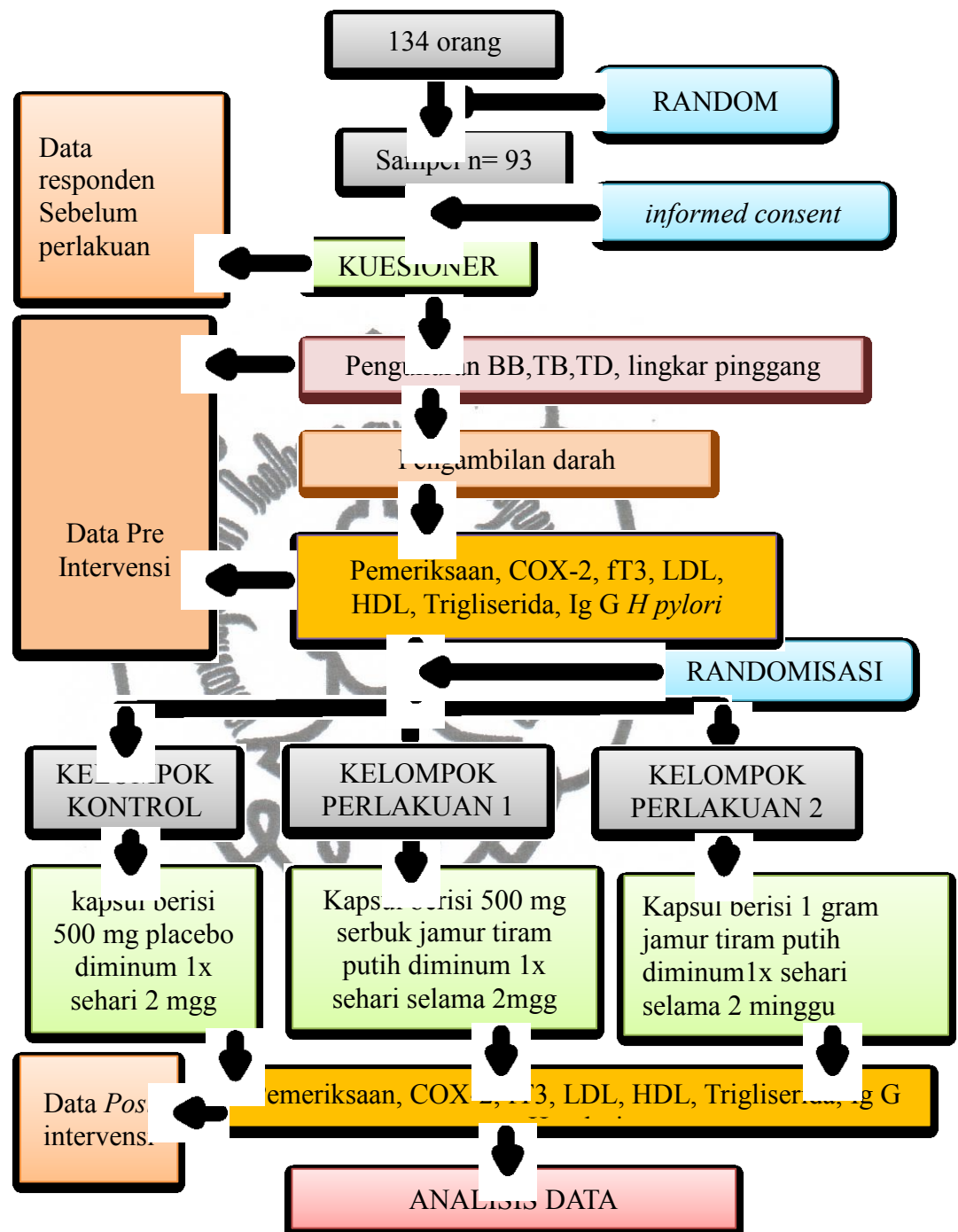
Analisis bivariat menggunakan uji *Wilcoxon* untuk mengetahui pengaruh suplementasi jamur tiram putih, karena distribusi data tidak normal.

d. Analisis multivariat

Analisis multivariat *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui pengaruh suplementasi jamur tiram putih dengan dosis 500mg dan 1.000mg serta kelompok kontrol pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.

K. Alur penelitian





Gambar 3.4 Alur Penelitian