

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Rancangan ini menggunakan penelitian eksperimental laboratorium (*true experimental-post test only control group design*), yang bertujuan untuk mengetahui efektifitas dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.) sebagai antihelmintik terhadap cacing *Ascaris suum*.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Cacing *Ascaris suum* sebagai sample penelitian ini diperoleh dari usus babi di Rumah Pemotongan Hewan di kecamatan Gadang, Kabupaten Malang.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian yang diambil adalah cacing *Ascaris suum* dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Inklusi:

- Cacing *Ascaris suum* jantan dan betina
- Cacing *Ascaris suum* yang masih hidup (aktif bergerak)

Eksklusi:

- Cacing *Ascaris suum* yang sudah mati

4.2.3 Metode Pengambilan Sampel

Jumlah sample minimal setiap satu cawan petri ditetapkan dengan menggunakan rumus Federer yaitu $(n-1)(t-1) \geq 15$.

Keterangan:

n = besar sample

t = jumlah kelompok perlakuan

Karena penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, maka:

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

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Sehingga subyek minimal yang akan diperlukan untuk satu cawan petri adalah 5 ekor.

Besar pengulangan pada penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus menurut Tjokronegoro (2001), yaitu:

$$p (n - 1) \geq 16.$$

keterangan:

n = Jumlah pengulangan

p = Jumlah kelompok coba

Karena dalam penelitian ini menggunakan 5 kelompok coba, maka:

$$p (n - 1) \geq 16$$

$$5 (n - 1) \geq 16$$

$$5n - 5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

$$n \approx 4$$

Jadi, jumlah pengulangan minimal yang akan diperlukan dalam penelitian ini adalah 4 kali. Tiap perlakuan masing-masing membutuhkan 5 ekor cacing, sehingga dalam penelitian ini diperlukan 100 cacing. Dilihat pengaruhnya pada jam ke-1 sampai ke-12 dan jam ke-24.

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang tanggal 2 – 5 April 2014.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah cacing *Ascaris suum* yang mati oleh pemberian larutan dekok daun pepaya pada konsentersasi tertentu.

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah larutan dekok daun pepaya dengan berbagai konsentersasi dan menentukan waktu misalnya jam ke1, jam ke-2, jam ke-3 dan seterusnya.

4.5 Definisi Operasional

- Daun pepaya (*Carica papaya*, L.) yang diperoleh dari Perkebunan PTPN di daerah Jember. Daun diperoleh dengan kriteria pohon pepaya yang memiliki tinggi kurang lebih 10 meter diameter 25 - 75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25 - 100 cm, berwarna hijau tua.
- Pembuatan dekok dengan cara direbus dalam air mendidih. Daun pepaya yang telah dirajang diberi aquades steril sebanyak 100 ml dimasukan ke tabung elenmeyer sampai didapatkan volume menjadi 50 ml (± 15 menit).
- Cacing *Ascaris suum* adalah cacing gelang yang umumnya berada di dalam usus halus babi yang diperoleh dari Rumah Pematangan Hewan di Gadang, Malang. Kemudian sampel dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, sesuai dengan rancangan penelitian.

- **Kontrol Negatif**
NaCl 0.9% merupakan larutan fisiologis yang digunakan sebagai kontrol negatif karena sifatnya yang isotonis dan tidak merusak membran sel cacing (Rahman, 2014).
- **Kontrol Positif**
Pirantel pamoat merupakan terapi lini pertama askariasis. Pirantel pamoat konsentrasi 1% digunakan sebagai kontrol positif dapat membunuh cacing dengan cara merusak struktur subseluler dan menghambat sekresi asetilkolinesterase cacing (Katzung, 2007). *Lethal dose* adalah dosis minimal yang menimbulkan kematian cacing 100% pada 24 jam pertama.
- **Daya Anthelmintik**
Daya anthelmintik merupakan kemampuan ekstrak daun pepaya dalam menimbulkan kematian pada cacing *Ascaris suum*. Daya anthelmintik ditentukan dengan menghitung *Lethal Concentration 100* dan *Lethal Time 100* serta membandingkannya dengan NaCl 0,9% sebagai kontrol negatif dan Pirantel pamoat 1% sebagai kontrol positif.
- **Kematian Cacing *Ascaris suum***
Parameter kematian cacing adalah tidak adanya respon saat disentuh dengan pinset, tidak bergerak ketika dimasukkan ke dalam air dengan suhu 37° C, serta diikuti dengan warna tubuh yang memudar (Sen *et al.*, 2012). Pengamatan dilakukan tiap 1 jam (Budiyanti, 2010). Penggunaan waktu 24 jam sebagai batas akhir pengamatan berdasarkan obat anthelmintik saat ini durasi kerjanya 24 jam (Gunawan, 2007).
- ***Lethal Concentration 100***
Lethal Concentration 100 adalah konsentrasi yang diperlukan untuk dapat membunuh 100% jumlah cacing pada waktu tertentu (IUPAC, 2003).

- *Lethal Time 100*

Lethal Time 100 adalah waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian pada 100% jumlah cacing pada konsentrasi tertentu (IUPAC, 2003).

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah

Alat untuk pembuatan dekok daun pepaya:

- Alat pemotong (pisau)
- Tabung elenmayer 500 ml
- Corong gelas
- Gelas ukur
- Kertas saring
- Neraca analitik
- Botol kaca

Alat-alat untuk uji daya anti helmintik :

- Cawan petri diameter 10 cm
- Batang pengaduk kaca
- Pinset
- Gelas ukur
- Labu ukur
- Timbangan
- Toples untuk menyimpan cacing
- Inkubator Thermo CO2 5%
- NaCl 0,9%
- Larutan uji konsentrasi 25%, 50%, 75%

- Pyrantel pamoat 1%

4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Larutan dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.)
- Cacing *Ascaris suum*

4.6.3 Pembuatan Dekok Daun Pepaya (*Carica papaya*, L.)

Persiapan penelitian meliputi pembuatan dekok daun pepaya, yang hasilnya digunakan dalam proses penelitian ini. Adapun prosesnya sebagai berikut

1. Daun pepaya sebanyak 1 kg yang sudah disiapkan dipotong kecil-kecil.
2. Daun pepaya yang sudah dipotong, kemudian dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung atau diangin-anginkan sampai benar-benar kering.
3. Setelah kering daun pepaya ditimbang seberat 100 gram.
4. Daun pepaya kering kemudian di masukkan ke dalam tabung elenmeyer dan diisi aquades steril sebanyak 100 ml.
5. Tabung elenmeyer ditutup kapas pada mulut tabung.
6. Tabung tersebut dimasukkan kedalam air yang mendidih 100° c hingga didapatkan volume dekok menjadi 50 ml (± 15 menit).
7. Air yang diperoleh dalam tabung enlemeyer ditampung dalam gelas steril.
8. Hasil akhir hingga diperoleh dekok daun pepaya berupa cairan berwarna coklat tua seperti teh dan dianggap sebagai konsentrasi 100% larutan dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.). Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan (Sjoekoer, 2006).

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Penyiapan Larutan Uji

Pengenceran larutan dekok daun pepaya dilakukan dengan menggunakan rumus pengenceran $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$. Penelitian ini meliputi 5 perlakuan : 1 kontrol (-), 1 kontrol (+), konsentrasi 25%, 50%, 75%.

- Kontrol (-) : Larutan NaCl 0,9%
- Kontrol (+) : 1 g Pirantel pamoat + 100 ml NaCl 0,9% → larutan Pirantel pamoat 1%
- Konsentrasi 25%: 10 ml larutan dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.).
Dilutkan NaCl 0.9% hingga mencapai 40 ml.
- Konsentrasi 50%: 20 ml larutan dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.).
Dilutkan NaCl 0.9% hingga mencapai 40 ml.
- Konsentrasi 75%: 30 ml larutan dekok daun pepaya (*Carica papaya*, L.).
Dilutkan NaCl 0.9% hingga mencapai 40 ml.

4.7.2 Persiapan Cacing *Ascaris suum*

Cacing *Ascaris suum* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari pemotongan babi di daerah Gadang, Malang. Cacing yang telah diidentifikasi sebelumnya dimasukkan ke dalam toples yang telah berisi rendaman larutan NaCl 0,9%.

4.7.3 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya, terlebih dahulu dilakukan penelitian pendahuluan, dengan kriteria rentang konsentrasi yang akan digunakan adalah:

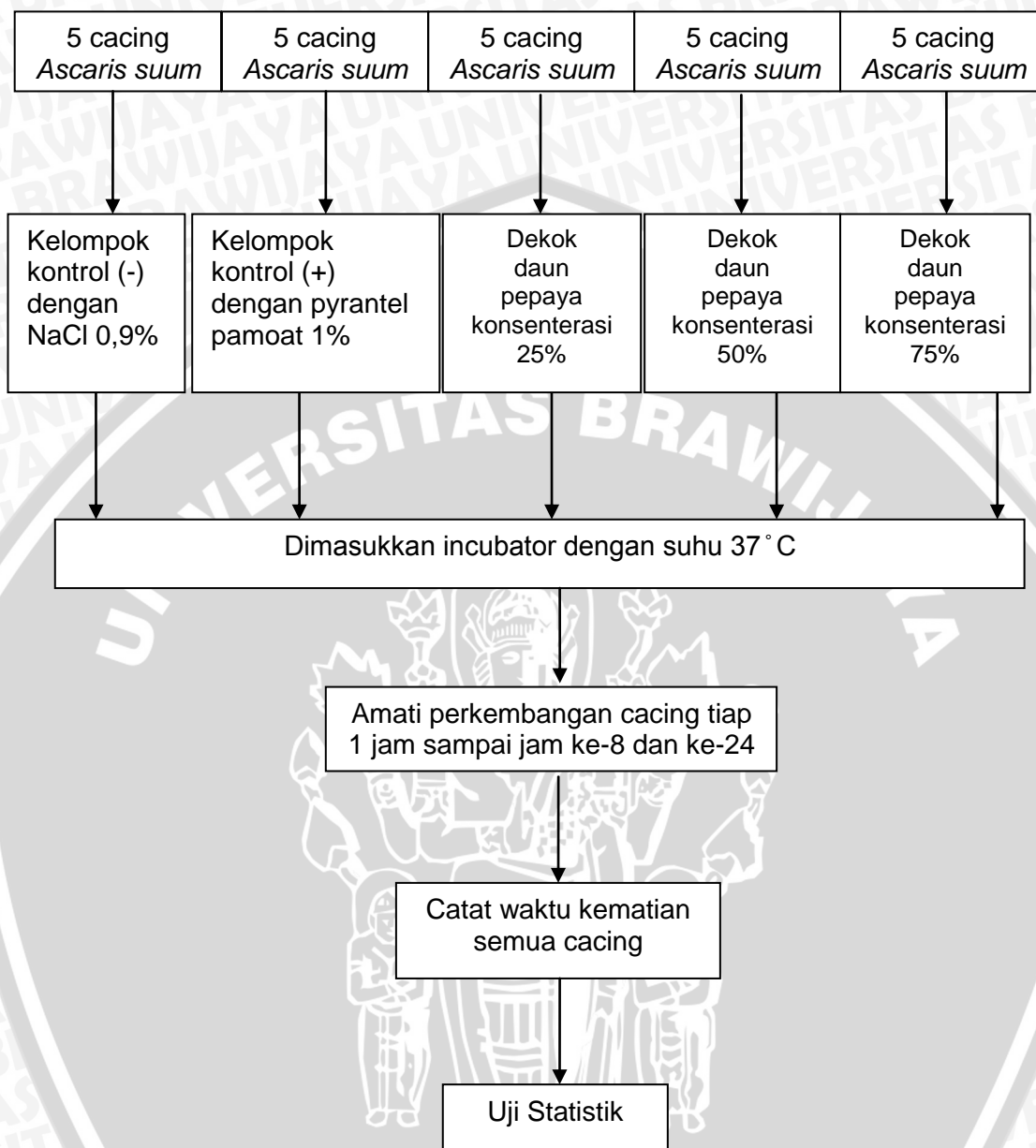
- Konsentrasi terkecil adalah dosis yang sesungguhnya yang menghasilkan jumlah cacing yang mati sebanyak 0% dari total cacing dalam satu kelompok

- Konsentrasi terbesar adalah konsentrasi yang menghasilkan jumlah yang mati sebanyak 100% dari jumlah total cacing dalam satu kelompok

4.7.5 Langkah Penelitian

1. Siapkan cawan petri, masing-masing berisi larutan dekok daun pepaya konsentrasi 25%, 50% dan 75%, kemudian dihangatkan terlebih dahulu pada suhu 37 °C dalam inkubator kurang lebih 15 menit.
2. Masukkan 5 ekor cacing *Ascaris suum* ke dalam cawan petri dengan menggunakan pinset yang sudah steril.
3. Diinkubasi pada suhu 37 °C.
4. Pengamatan dilakukan setiap 1 jam, dengan cara merendam cacing ke dalam rendaman air hangat (50°C) kemudian cacing disentuh dengan pinset. Jika cacing tidak bergerak maka cacing tersebut dinyatakan mati.
5. Hasil yang diperoleh dicatat.
6. Penelitian ini dilakukan 4 kali ulangan.

4.8 Skema Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

4.9 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-4, jam ke-5, jam ke-6, jam ke-7, jam ke-8, jam ke-9 dan jam ke-24. Keadaan semua kelompok perlakuan diamati untuk mencari perubahan jumlah cacing yang hidup. Jumlah cacing yang mati dihitung dan dimasukkan dalam tabel.

4.10 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah cacing yang mati, dan waktu pengulangan. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik.

4.11 Analisis Data

Data hasil penelitian diolah dengan menggunakan analisis probit untuk mengetahui LC₁₀₀ dan LT₁₀₀ dari dekok daun pepaya.

