

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Rancangan ini menggunakan penelitian eksperimental laboratorium (*true experimental-post test only controlled group design*), yang bertujuan untuk mengetahui daya antihelmintik dekok kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap cacing *Ascaris suum*, Goeze.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**4.2.1 Populasi**

Populasi penelitian ini menggunakan cacing *Ascaris suum*, Goeze.

4.2.2 Sampel

Cacing *Ascaris suum* sebagai sampel penelitian ini diperoleh dari usus babi di Rumah Pemotongan Hewan di Kecamatan Gadang, Malang.

1. Kriteria Inklusi

Merupakan karakteristik umum yang harus dipenuhi subyek penelitian atau populasi agar dapat diikutsertakan dalam penelitian (Kemenkes, 2012).

Pada penelitian ini kriteria inklusinya berupa :

1. Cacing jantan atau betina dewasa
2. Cacing yang aktif bergerak
3. Cacing dengan kondisi tubuh yang utuh

2. Kriteria Eksklusi

Merupakan keadaan yang menyebabkan subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi tetapi tidak dapat diikutsertakan dalam penelitian (Kemenkes, 2012). Pada penelitian ini kriteria eksklusinya adalah :

1. Cacing sudah tidak bergerak saat akan dimasukkan ke dalam cawan petri
2. Cacing mengalami trauma mekanik saat akan dimasukkan ke dalam cawan petri

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

Keterangan :

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

karena penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, maka :

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(5-1) > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 4,75$$

(Pratiwi, 2011)

Sehingga subyek minimal yang akan diperlukan untuk satu cawan petri adalah 5 ekor. Jumlah pengulangan yang akan dilakukan menggunakan rumus menurut Tjokronegoro (2001), yaitu :

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

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

$$5n - 5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

$$n = 4$$

Keterangan :

P = jumlah kelompok coba

n = jumlah pengulangan

Jadi jumlah pengulangan minimal yang akan diperlukan untuk penelitian ini adalah 4 kali. Tiap perlakuan memerlukan 5 ekor cacing, sehingga total cacing yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 100 cacing.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan September 2014.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah cacing *Ascaris suum* yang mati oleh pemberian dekok kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada konsentrasi tertentu.

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dekok kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan tiga konsentrasi berbeda (30%, 40%, dan 50%) dan menentukan waktu paparan misalnya jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, sampai dengan jam ke-24.

4.5 Definisi Operasional

- Kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang digunakan adalah kulit batang pohon rambutan yang berwarna kecokelatan kemudian dikeringkan dan digiling menjadi serbuk. Kulit pohon rambutan diperoleh dari Materia Medika Batu, Jawa Timur.
- Pembuatan dekok dengan cara memasukkan 100 gram serbuk kulit pohon rambutan ditambah aquades sebanyak 100 ml dimasukkan tabung erlenmeyer dan direbus dalam air mendidih selama 15 menit.
- Cacing *Ascaris suum* adalah cacing gelang yang umumnya berada di dalam usus halus babi yang diperoleh dari rumah pemotongan hewan di Kecamatan Gadang, Malang.
- *Lethal concentration* adalah jumlah konsentrasi dari dekok kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang dibutuhkan untuk membunuh

sejumlah cacing dalam waktu tertentu. Dalam penelitian ini digunakan LC_{100} atau jumlah konsentrasi untuk membunuh 100% cacing (Peter, 2006)

- *Lethal time* adalah waktu yang dibutuhkan dari dekok kulit pohon rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) untuk membunuh sejumlah cacing dengan konsentrasi tertentu. Dalam penelitian ini digunakan LT_{100} atau waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 100% cacing. LT_{100} digunakan untuk membandingkan efektivitas dekok kulit pohon rambutan dengan pirantel pamoat (Peter, 2006)
- Daya antihelmintik merupakan kemampuan untuk menimbulkan kematian cacing *Ascaris suum*. Pada penelitian ini, daya antihelmintik ditentukan dengan menghitung *Lethal concentration* dan *Lethal time* dekok kulit pohon rambutan
- Kematian cacing adalah tidak adanya respon saat cacing disentuh dengan pinset, tidak bergerak secara aktif ketika dimasukkan ke dalam air dengan suhu 50 °C.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah

- Heater Elektrik
- Gelas beker
- Tabung erlenmeyer
- Cawan petri berdiameter 10 cm
- Batang pengaduk kaca

- Pinset
- Gelas ukur
- Labu ukur
- Timbangan
- Toples
- Inkubator thermo CO₂ 5%
- Laminar Esco Airstream

4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah dekok kulit pohon rambutan konsentrasi 30 %, 40%, 50%, larutan PBS yang mengandung 1% FBS, pirantel pamoat 1%, dan cacing *Ascaris suum*.

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

1. Proses Dekok Kulit pohon rambutan

Proses pembuatan dekok ini dimulai dengan kulit pohon rambutan yang telah dibersihkan dan dikeringkan, kemudian digiling menjadi serbuk lalu di timbang sebanyak 100 g. Kemudian serbuk kulit pohon rambutan tersebut di masukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan di tambahkan aquades steril sebanyak 100 ml. Kemudian mulut tabung erlenmeyer ditutup dengan kapas lalu dipanaskan sampai mencapai suhu 100° C, kemudian biarkan sampai 15 menit. Hasil rebusan didapatkan dekok 50 ml lalu dimasukkan ke dalam botol steril berupa cairan berwarna coklat tua seperti teh dan hasil inilah yang dipakai dalam penelitian (Sjoekoer, 2006)

2. Cara Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 30%, 40%, dan 50% dan diamati tiap 1 jam. Pembuatan konsentrasi untuk larutan uji sebagai berikut:

Konsentrasi I : 12 ml dekok kulit pohon rambutan + 18 ml PBS yang mengandung 1% FBS = Larutan dekok kulit pohon rambutan 30%

Konsentrasi II : 15 ml dekok kulit pohon rambutan + 15 ml PBS yang mengandung 1% FBS = Larutan dekok kulit pohon rambutan 40%

Konsentrasi III : 18 ml dekok kulit pohon rambutan + 12 ml PBS yang mengandung 1% FBS = Larutan dekok kulit pohon rambutan 50%

3. Konsentrasi Larutan Pirantel Pamoat

Pada penelitian ini digunakan larutan Pirantel pamoat sebesar 1%. Pembuatan larutan pirantel pamoat 1 % tersebut adalah sebagai berikut : 100 mg pirantel pamoat + 1000 mL PBS yang mengandung 1% FBS

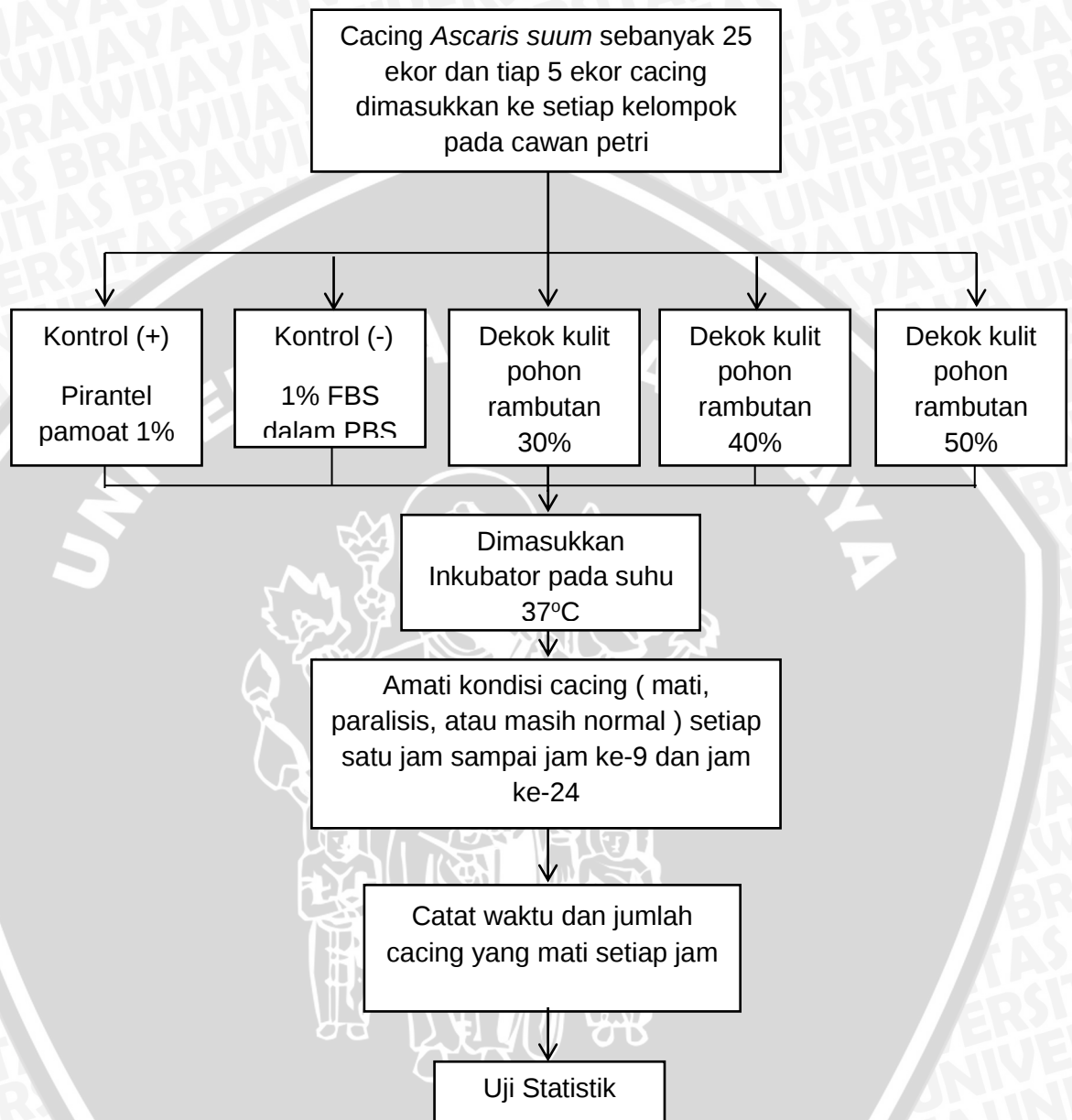
4. Pengamatan Cacing *Ascaris suum*

Prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut : sampel diambil dari lumen usus babi potong. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok percobaan yakni kelompok 1, 2, dan 3 adalah dekok kulit pohon rambutan dengan konsentrasi masing-masing 30%, 40%, dan 50%. Kelompok 4 adalah pirantel pamoat 1% yang merupakan kontrol positif. Kelompok 5 adalah larutan PBS yang mengandung 1% FBS yang merupakan kontrol negatif.

Masing – masing kelompok kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali dan setiap pengulangan berisi 5 ekor cacing *Ascaris suum* yang direndam dalam 20 ml dekok kulit pohon rambutan, larutan pirantel pamoat dan larutan PBS yang mengandung 1% FBS sesuai dengan konsentrasi masing – masing.

1. Cawan petri masing masing diberi dekok kulit pohon rambutan, pirantel pamoat sesuai dengan konsentrasi masing - masing, serta PBS yang mengandung 1% FBS yang telah dihangatkan dulu pada suhu 37°C
2. *Ascaris suum* dimasukkan ke dalam masing - masing cawan petri yang sudah disiapkan, kemudian di inkubasi dengan suhu 37°C
3. Cacing *Ascaris suum* kemudian diamati. Untuk melihat apakah cacing mati, paralisis atau masih normal, maka cacing diusik dengan pinset. Jika pada saat diusik cacing tidak bergerak, maka cacing tersebut dimasukkan ke dalam air dengan suhu 50°C. Jika cacing tidak bergerak pada suhu 50°C, maka cacing tersebut telah mati. Sedangkan apabila cacing bergerak, berarti cacing hanya paralisis.
4. Hasil pengamatan dicatat dan didokumentasikan

4.8 Skema Alur Kerja Penelitian



4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Rancangan penelitian ini termasuk dalam *experimental murni* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Pada penelitian ini digunakan analisa probit untuk mencari LC_{100} dan LT_{100} dari dekok kulit pohon rambutan dan LT_{100} dari pirantel pamoat 1%. Analisa probit diolah dengan menggunakan program MINI TAB 17.

