

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui daya antihelmintik ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap *Ascaris suum* secara *in vitro*.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Pemilihan Sampel

Subjek penelitian berupa *Ascaris suum* yang masih hidup dan aktif bergerak, diambil dari usus halus babi yang diperoleh dari rumah pemotongan hewan "Gadang" Kota Malang. Kemudian sampel dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, sesuai dengan rancangan penelitian.

1. Kriteria Inklusi

Merupakan karakteristik umum yang harus dipenuhi oleh subjek penelitian agar bisa diikutsertakan dalam penelitian (Nursalam, 2003).

Kriteria inklusinya berupa:

- Cacing dewasa baik betina maupun jantan
- Cacing hidup dan bergerak

2. Kriteria Eksklusi

Merupakan hal-hal yang menyebabkan sampel yang masuk dalam kriteria tidak dapat diikutsertakan dalam penelitian (Nursalam, 2003).

Kriteria eksklusinya berupa:

- Cacing yang anggota tubuhnya terpotong, tidak utuh atau cacat

4.2.2 Estimasi Besar Sampel

Penentuan besar sampel dihitung dengan rumus Federer:

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

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Karena penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, maka:

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

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

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

$$4n > 19$$

$$n > 4,75 \sim 5$$

(Tjokronegoro, 2001)

Sehingga subyek yang diperlukan adalah minimal 5 ekor

Cacing *Ascaris suum* akan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang akan diberi perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol negatif dengan larutan PBS 1%
2. Kelompok kontrol positif dengan pirantel pamoat 1%

3. Dimasukkan dalam larutan ekstrak ethanol kayu manis dengan konsentrasi 20%
4. Dimasukkan dalam larutan ekstrak ethanol kayu manis dengan konsentrasi 25%
5. Dimasukkan dalam larutan ekstrak ethanol kayu manis dengan konsentrasi 30%

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Agustus 2014.

4.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (*Independent Variable*)
 - Konsentrasi ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)
 - Waktu paparan dari ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)
2. Variabel tergantung (*Dependent Variable*)
 - Daya antihelmintik ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

1. Cawan petri diameter 15 cm
2. Batang pengaduk kaca

3. Pinset anatomis
4. Gelas ukur
5. Labu takar
6. Timbangan
7. Toples untuk menyimpan cacing
8. Inkubator
9. Laminar flow
10. PBS 1%
11. Larutan uji konsentrasi 20%, 25% dan 30%
12. Larutan pirantel pamoat 1%

4.6 Definisi Operasional

1. Kayu Manis

Bagian dari tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang digunakan adalah kulit batang kayu manis yang didapatkan dari materia medika. Kayu manis kemudian dihaluskan dan dijadikan serbuk.

2. Ekstrak Kayu Manis

Ekstrak kayu manis adalah ekstrak yang dihasilkan dari serbuk kayu manis dengan teknik ekstraksi maserasi menggunakan pelarut ethanol 80%.

3. *Ascaris suum*

Cacing *Ascaris suum* diambil dari penyembelihan dengan kurun waktu kurang lebih satu jam setelah penyembelihan babi. Selanjutnya cacing

dimasukkan ke dalam larutan PBS 1% dan dibawa ke Laboratorium Parasitologi untuk perlakuan. Waktu yang dibutuhkan cacing dari mulai babi disembelih sampai cacing dimasukkan ke dalam inkubator membutuhkan waktu kurang lebih satu jam.

4. *Lethal Concentration*

Konsentrasi dari ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang dibutuhkan untuk membunuh sejumlah cacing dalam waktu tertentu.

5. *Lethal Time*

Waktu yang dibutuhkan dari ekstrak ethanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) untuk membunuh sejumlah cacing dengan konsentrasi tertentu.

4.7 **Prosedur Penelitian**

4.7.1 **Pembuatan Ekstrak Ethanol Kayu Manis**

Kayu manis sebanyak 1000 gram dihaluskan menjadi serbuk dan disaring dengan saringan berdiameter lubang 1 mm.

1. Serbuk kayu manis ditambahkan pelarut ethanol 80% sebanyak 3000 ml, diaduk selama 30 menit dan didiamkan 24 jam, setelah itu disaring dan diulang tiga kali.
2. Dari hasil penyaringan didapatkan ampas dan filtrat. Filtrat kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pemanas *water bath* dengan suhu 70°C. Dari proses ini didapatkan ekstrak kental kayu manis.

3. Ekstrak kental ini kemudian dituang dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan *water bath* sambil terus diaduk.
4. Didapatkan ekstrak kayu manis yang siap digunakan.

4.7.2 Persiapan Cacing *Ascaris suum*

Cacing *Ascaris suum* diperoleh dari rumah pemotongan hewan Gadang Kota Malang. Cacing *Ascaris suum* yang digunakan adalah cacing yang masih hidup dan aktif bergerak, setelah itu cacing dibagi menjadi lima kelompok perlakuan di Laboratorium Parasitologi Universitas Brawijaya yang selanjutnya akan dilakukan penelitian.

4.7.3 Persiapan Larutan Uji

Penelitian ini terdapat 2 kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, untuk kontrol digunakan PBS 1% sebagai kontrol negatif serta pirantel pamoat 1% sebagai kontrol positif.

Sedangkan untuk kelompok perlakuan terdapat 3 macam perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi yang akan digunakan adalah 20%, 25% dan 30%. Untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan tersebut digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

- M_1 : Konsentrasi awal larutan
- V_1 : Volume awal larutan
- M_2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan
- V_2 : Volume larutan yang diinginkan

4.7.4 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bersifat *trial* dan *error* yang bertujuan untuk memperoleh konsentrasi minimal ekstrak kayu manis yang dapat membunuh semua cacing *Ascaris suum* dalam satu cawan petri.

4.7.5 Cara Kerja

1. Menyiapkan cawan petri, masing-masing berisi 20 ml larutan ekstrak kayu manis berkonsentrasi 20%, 25% dan 30%, kemudian dihangatkan terlebih dahulupada suhu 37°C dalam inkubator selama kurang lebih 15 menit.
2. Memasukkan masing-masing 5 ekor cacing *Ascaris suum* ke dalam cawan petriyang berisi ekstrak kayu manis tersebut.
3. Melakukan inkubasi pada suhu 37°C
4. Mengamati keadaan cacing setiap 1 jam hingga jam ke-8 dan diamati lagi pada jam ke-24. Penggunaan waktu 24 jam sebagai batas akhir pengamatan berdasarkan obat antihelmintik saat ini durasi kerjanya 24 jam.
5. Kematian cacing dilihat dengan ada tidaknya respon gerakan ketika disentuh dengan lidi, cara ini digunakan ketika mengamati cacing pada jam ke-1 hingga jam ke-8 dan pada jam ke-24 cacing dimasukkan ke dalam air dengan suhu 50°C untuk melihat respon gerakan.
6. Mencatat hasil yang diperoleh
7. Penelitian dilakukan 4 kali ulangan berdasarkan rumus estimasi jumlah pengulangan

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

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

$$5n - 5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

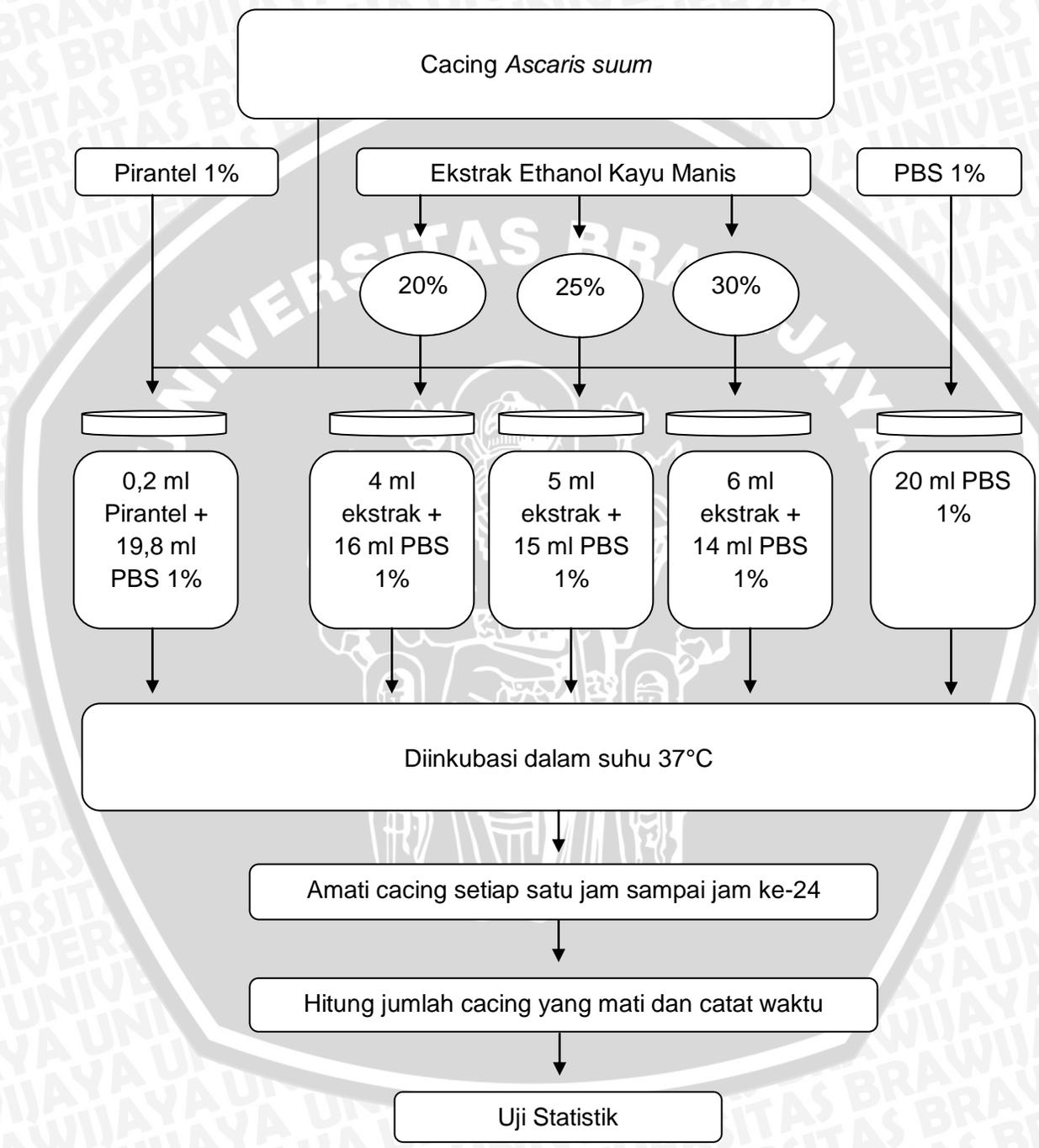
$$n \geq 4,2 \sim 4$$

Keterangan: p = Jumlah perlakuan
 n = Jumlah pengulangan yang harus dilakukan

Dari rumus tersebut, jika banyak perlakuan adalah 5 maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan adalah 4 (Tjokronegoro, 2001).



4.7.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian

4.8 Analisis Data

Data diperoleh dari pengamatan waktu kematian total cacing *Ascaris suum* setiap 60 menit selama 8 jam. LC_{100} dan LT_{100} ekstrak kayu manis dihitung menggunakan uji probit. Syarat dari uji probit ini adalah sebaran datanya normal. Untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak, dapat digunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis data menggunakan program Minitab 14 for Windows.

