

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan dua variabel utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas (independen) yaitu ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) sebagai pengganti eosin 2%. Sedangkan variabel terikat (dependen) yaitu kualitas sediaan telur cacing. Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85% dan kontrol positif menggunakan eosin 2%. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali yang didapat dari perhitungan menggunakan rumus Federer yaitu $(t - 1)(n - 1) \geq 15$ dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang dari proses pemeriksaan telur cacing. Selanjutnya proses pembuatan ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris L.*) dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Juni 2024.

C. Subyek Penelitian

Subjek penelitian ini merupakan buah bit (*Beta vulgaris L.*) yang diambil adalah dengan karakteristik yang masih segar berwarna merah. Buah bit (*Beta vulgaris L.*) dijadikan ekstrak lalu dibuat pengenceran dengan konsentrasi yaitu 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, dan 85% yang digunakan sebagai larutan pengganti eosin dalam pemeriksaan telur cacing *Ascaris lumbricoides*. Telur cacing *Ascaris lumbricoides* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Dilakukan identifikasi telur cacing melalui pemeriksaan telur cacing menggunakan pewarna eosin 2% yaitu ditetaskan 1-2 tetes eosin 2%, selanjutnya sampel telur cacing diambil menggunakan lidi dan dicampurkan hingga homogen, lalu ditutup menggunakan deck glass. Kemudian dilakukan pemeriksaan dibawah

mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10x dan 40x di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

No	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat Ukur	Hasil	Skala
1.	Independen					
	Ekstrak Buah Bit (<i>Beta vulgaris L.</i>) yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah bit berwarna merah. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya, ekstrak tersebut diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi, yaitu 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, dan 85%.	Ekstrak diencerkan dengan rumus $V1 \times \%1 = V2 \times \%2$		Pipet Ukur	Ekstrak Buah Bit (<i>Beta vulgaris L.</i>) konsentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85%	Rasio
2.	Dependen					
	Kualitas sediaan telur cacing <i>Ascaris lumbricoides</i>	Larutan pemeriksaan telur cacing menggunakan ekstrak buah bit sebagai pengganti eosin 2 %	Melakukan pengamatan preparat	Mikroskop	Tidak kontras, kurang kontras, dan kontras terhadap eosin 2%	Ordinal

E. Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini menggunakan 7 perlakuan dengan variasi konsentrasi yaitu konsentrasi ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85% dan eosin sebagai kontrol positif.

1. Prosedur Penelitian

- a. Permohonan izin diajukan kepada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk proses pembuatan

ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L*) di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung.

- b. Melakukan pengumpulan bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu buah bit (*Beta vulgaris L*).
- c. Menyiapkan alat alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L*).
- d. Pembuatan simplisia buah bit.
- e. Pembuatan ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L*) di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung.
- f. Pembuatan pengenceran dengan kosentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85% dengan 4 kali pengulangan.
- g. Melakukan pemeriksaan mikroskopis telur cacing dengan ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L*) dengan masing-masing kosentrasi dengan menggunakan mikroskop di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Metode pemeriksaan telur cacing

Pada penelitian ini menggunakan metode secara langsung yaitu direct slide.

3. Prosedur Kerja

a. Persiapan alat dan bahan

1. Persiapan alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : mikroskop, beaker glass, pipet tetes, rak tabung, neraca analitik, lidi, tabung reaksi, objek glass, deck glass, kertas lensa, pipet ukur, karet penghisap, pisau, spatula, neraca digital, corong, saringan, blender, gelas ukur, rotary evaporator, batang pengaduk, botol reagen.

2. Persiapan bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*), etanol 96%, Eosin 2%, aquadest steril dan sampel feses (+) telur cacing *Ascaris lumbricoides*.

3. Pembuatan ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*)

a. Pembuatan simplisia

Sampel buah bit \pm 4 kg dikumpulkan dengan karakteristik yang masih segar berwarna merah, lalu dicuci pada air bersih kemudian ditiriskan. Sampel dijemur menggunakan tutupan kain hitam dan diletakkan dibawah sinar matahari dengan tidak langsung. Simplisia setelah mengering selanjutnya dihaluskan menggunakan alat blender kemudian disaring dan diletakkan di dalam wadah kering dan bersih.

b. Pembuatan ekstrak buah bit

Serbuk simplisia 500 gr direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 5 liter dan diaduk menggunakan batang pengaduk lalu diamkan selama 3 x 24 jam di dalam wadah yang tertutup dan diaduk agar tidak jenuh setiap 24 jam disuhu ruang, kemudian setelah 3 x 24 jam disaring menggunakan kertas saring dan corong kaca sehingga diperoleh filtrat. Kemudian seluruh filtrat yang didapat lalu dipekatkan menggunakan vacuum rotary evaporator kurang lebih 6-10 jam dengan suhu 40-50°C hingga didapatkan ekstrak yang kental. Setelah itu dilakukan pengenceran 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85% menggunakan aquadest steril dan dilakukan perhitungan menggunakan rumus pengenceran. Hasil perhitungan pengenceran tiap konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 2.

$$V1 \times \%1 = V2 \times \%2$$

Keterangan :

V1 = Volume larutan uji yang dipipet (ml)

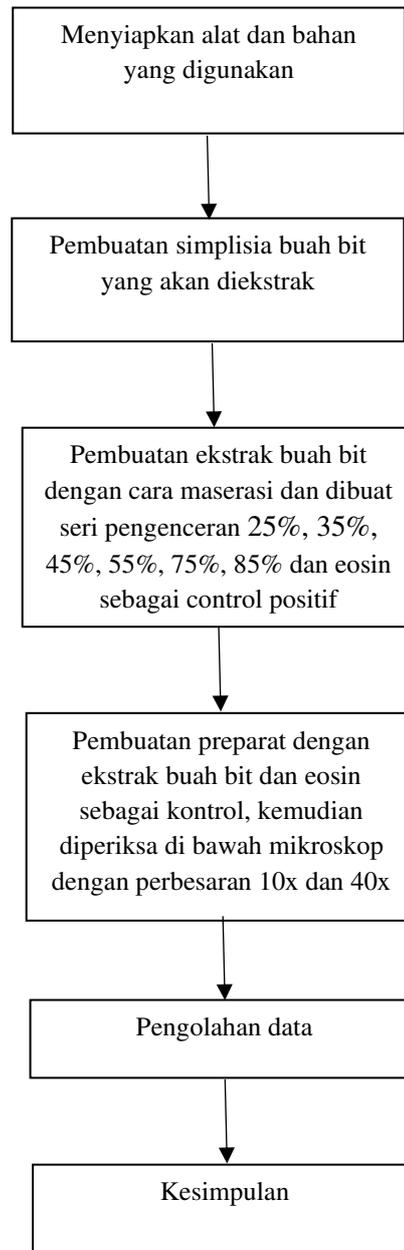
%1 = konsentrasi larutan (%)

V2 = Volume larutan yang diinginkan (ml)

%2 = konsentrasi yang dibuat (%)

- c. Pembuatan sediaan preparat telur cacing *Ascaris lumbricoides*
1. Pembuatan sediaan preparat menggunakan ekstrak buah bit dengan konsentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, 75%, 85%. Ekstrak buah bit diaplikasikan pada objek kaca dengan tetesan sebanyak 1-2 tetes. Selanjutnya, sampel telur cacing diambil menggunakan lidi dan dicampurkan dengan ekstrak buah bit hingga homogen. Campuran tersebut kemudian ditutup menggunakan deck glass dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10x dan 40x.
 2. Pembuatan preparat menggunakan eosin 2%
Eosin 2% ditetaskan pada kaca objek sebanyak 1-2 tetes. Selanjutnya sampel telur cacing diambil menggunakan lidi dan dicampurkan hingga homogen. Campuran tersebut kemudian ditutup dengan menggunakan deck glass dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10x lalu diperjelas menggunakan lensa objektif 40x.
 3. Interpretasi hasil pemeriksaan
Interprestasi hasil pada pemeriksaan telur cacing dilihat berdasarkan penilaian skala liket scale (skoring) 1, 2, dan 3.
Kriteria penilaian :
Skor 1 : diberikan apabila latar belakang tidak kontras terhadap eosin 2%.
Skor 2 : diberikan apabila latar belakang kurang kontras terhadap eosin 2%.
Skor 3 : diberikan apabila latar belakang kontras terhadap eosin 2%.

4. Alur Penelitian



F. Pengolahan dan Analisa Data

Pengolahan data didapatkan dari hasil pemeriksaan kualitas sediaan menggunakan pewarna eosin dan pewarna alternatif buah bit dalam mengidentifikasi telur cacing *Ascaris lumbricoides* dalam bentuk skor dinyatakan dalam nilai 1, 2 dan 3. Kemudian analisa data yang dipakai penelitian ini menggunakan analisa data menggunakan pengujian hipotesa *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

G. Ethical Clearenece (Persetujuan Etik)

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik No.466/KEPK-TJK/V/2024. Penelitian ini tidak akan mengakibatkan risiko terhadap lingkungan. Limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini dikumpulkan lalu diolah dengan penanganan limbah. Limbah sediaan preparat dikumpulkan kemudian dibuang ke kotak *safety box* lalu diolah dengan penanganan limbah. Limbah larutan uji ekstrak yang telah dilakukan pemeriksaan dibuang kedalam saluran pembuangan agar limbah tersebut tidak menimbulkan bahaya bagi lingkungan.