

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian eksperimental. Sebagai alternatif pengganti eosin 2% untuk mewarnai telur *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, dan *Necator americanus*, penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh perendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn. f) pada berbagai lama penyimpanan (1 hari, 3 hari, dan 7 hari). Penelitian ini mencakup dua kategori variabel, yaitu variabel independen dan variabel dependen. Variabel bebasnya adalah variasi lama penyimpanan daun jati (*Tectona grandis* Linn. f) yaitu 1, 3, dan 7 hari. variabel terikatnya adalah kualitas pewarnaan dalam analisis telur *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, dan *Necator americanus*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2025.

C. Subyek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur cacing *soil-transmitted helminths* (STH) yang diperoleh peneliti dari Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, dalam kondisi siap pakai untuk keperluan penelitian. Adapun sampel yang digunakan berupa rendaman pucuk daun jati *Tectona grandis* Linn.f dengan empat variasi perlakuan, yaitu berdasarkan lama penyimpanan selama 1 hari, 3 hari, 7 hari, serta satu kelompok kontrol positif. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan eosin 2%. Penentuan jumlah pengulangan pada masing-masing perlakuan dirancang berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

Keterangan :

n = Banyaknya pengulangan

t = Jumlah kelompok perlakuan

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

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$3r-4 \geq 15$$

$$3r \geq 15 + 4$$

$$r \geq 18$$

$$r \geq 18:3$$

$$r \geq 6$$

Dari hasil kalkulasi menggunakan rumus Federer di atas, diperoleh jumlah pengulangan minimum 6 kali.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas	Rendaman pucuk daun jati sebagai reagen	Observasi	Kalender	-1 hari - 3 hari - 7 hari	Ordinal
Variasi lama penyimpanan pucuk daun jati (<i>Tectona grandis</i> Linn.f) yaitu 1 hari, 3 hari dan 7 hari	alternatif pengganti eosin pada pemeriksaan telur cacing yang disimpan selama 1,3 dan 7 hari				
Variabel Terikat	Pemenuhan kualitas pewarnaan telur cacing <i>soil transmitted helminths</i> (STH)	Mikroskopis	Mikroskop	Tidak Baik 1 Baik 2	
Kualitas pewarnaan pada pemeriksaan telur cacing STH (<i>Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Necator americanus</i>)	menggunakan rendaman pucuk daun jati sebagai pengganti eosin yang diperiksa dibawah mikroskop				

dengan
perbesaran 10x
dan 40x
meliputi lapang
pandang
memiliki
kontras tinggi,
latar bealkang
menyerap
dddddw
arna, dan
morfologi telur
cacing terlihat
jelas

E. Pengumpulan Data

Pada penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dengan variasi waktu perendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) 1, 3, 7 hari eosin sebagai kontrol positif.

1. Prosedur Penelitian

- 1) Permohonan izin diajukan kepada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk proses pembuatan rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) di Laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
- 2) Melakukan pengumpulan bahan yang diperlukan dalam penelitian yaitu 750 gram pucuk daun jati muda (*Tectona grandis* Linn.f) yang dibeli melalui toko pertanian secara online.
- 3) Menyiapkan alat alat yang digunakan untuk pembuatan rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f).
- 4) Pembuatan rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) di Laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
- 5) Penyimpanan rendaman pucuk daun jati pada botol kaca gelap tertutup dan suhu 10°C
- 6) Melakukan pemeriksaan mikroskopis telur cacing dengan rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) dengan masing-masing waktu penyimpanan menggunakan mikroskop di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Metode Pemeriksaan Telur Cacing

Pada penelitian, pemeriksaan menggunakan metode secara langsung yaitu *direct slide*.

1. Cara Pengumpulan Data

a. Alat

Mikroskop, sentrifuge, kaca penutup, kaca objek, gelas ukur 250ml , pipet tetes, tabung sentrifug, tusuk gigi, botol kaca gelap, kertas saring, gunting, penyaring teh dan timbangan analitik.

b. Bahan

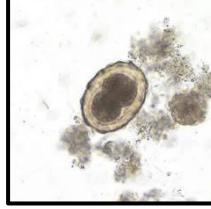
Aquadest, sampel telur *cacing soil transmitted helminths*, pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f).

c. Prosedur Kerja Pembuatan Rendaman Pucuk Daun Jati

- 1) Jemur pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) dibawah sinar matahari menggunakan penutup kain berwarna hitam agar tidak terkena matahari langsung sampai mengering selama 1 hari.
- 2) Cacah pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) yang sudah kering menggunakan blender dan lakukan hal tersebut sampai pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) menjadi halus.
- 3) Saring cacahan pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) yang sudah halus dengan penyaring teh.
- 4) Ditimbang cacahan pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) 10 gram dan masukkan ke glass beaker 250ml.
- 5) Ditambahkan 25 ml alkohol 96% kedalam beaker gelas.
- 6) Homogenkan sampai tercampur sempurna.
- 7) Kemudian lakukan penyaringan kembali dengan penyaring teh sebanyak 2 kali.
- 8) Selanjutnya saring rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) menggunakan kertas saring.
- 9) Sentrifuse rendaman pucuk daun jati dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit, lalu ambil supernatan.

- 10) Masukan supernata rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) ke botol kaca gelap lalu labeli di tiap botol dan rendaman pucuk daun jati (*Tectona grandis* Linn.f) siap di gunakan (Pratama.,2013)
3. Penyimpanan Rendaman Pucuk Daun Jati
 - 1) Masukkan hasil rendaman pucuk daun jati konsentrasi 100% kedalam botol gelap.
 - 2) Bungkus menggunakan aluminium foil.
 - 3) Simpan rendaman pucuk daun jati pada suhu 10°C selama 1 hari, 3 hari dan 7 hari. (Pratama.,2013)
4. Uji Antosianin Rendaman Daun Jati Dengan HCl 2N
 - 1) Siapkan 10 ml rendaman pucuk daun jati
 - 2) Masukkan rendaman pucuk daun jati ke beaker glass.
 - 3) Panaskan rendaman pucuk daun jati selama 5 menit di atas hot plate.
 - 4) Tambahkan 5ml HCl 2N.
 - 5) Lihat warna jika positif antosianin rendaman pucuk daun jati akan memberikan warna merah (Utami,2021)
5. Pemeriksaan Telur Cacing Menggunakan Pewarnaan Eosin 2% Sebagai Kontrol
 - 1) Ambil objek glass dan bersihkan objek glass agar hilang dari lemak
 - 2) Teteskan 1-2 tetes eosin ke objek glass.
 - 3) Tambahkan sampel telur cacing (\pm 2 mg) ratakan di atas objek glass dengan lidi lalu homogenkan
 - 4) Tutup menggunakan deck glass sampai sediaan tertutupi sempurna sehingga tidak terbentuk gelembung-gelembung udara
 - 5) Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x 40x (Daeli 2021)

Tabel 3.2 Interpretasi Hasil

Telur cacing	Gambar	Keterangan
<i>Ascaris lumbricoides</i>		Tidak ada pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah dapat terwarnai dan morulanya terwarnai. Terdapat pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah tidak dapat terwarnai dan morulanya tidak terwarnai.
<i>Trichuris trichiura</i>		Tidak ada pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah dapat terwarnai dan morulanya terwarnai. Terdapat pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah tidak dapat terwarnai dan morulanya tidak terwarnai.
<i>Necator americanus</i>		Tidak ada pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah dapat terwarnai dan morulanya terwarnai. Terdapat pengaruh jika telur cacing yang ditransmisikan melalui tanah tidak dapat terwarnai dan morulanya tidak terwarnai.morula tidak terwarnai.

Sumber: (CDC,2019) (CDC,2022)

F. Pengolahan dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Dalam penelitian ini, kemampuan pewarna dalam memberikan warna pada telur cacing STH serta warna latar belakang yang dihasilkan dinilai dengan memanfaatkan metode analisis data. Dengan memanfaatkan perangkat lunak SPSS, uji *Kruskal-Walls* dan *Man Whitney* diterapkan untuk menganalisis data yang telah dikumpulkan.

2. Analisis Data

Pengolahan data dilaksanakan setelah semua data terkumpul semua, mengikuti hasil pengamatan, dengan tahapan-tahapan berikut:

- Pemberian Kode (*Coding*): Menambahkan kode untuk mempermudah proses memasukkan data ke komputer (*data entry*).

- b. Memasukkan Data (*Entry Data*): Input data yang telah dikumpulkan ke aplikasi atau program komputer, yaitu SPSS versi 25 *for Windows*.
- c. Pemberian Skor (*Scoring*): Memberikan skor pada variabel yang diperiksa untuk memperoleh hasil yang signifikan.

G. Persetujuan Etik (*Ethical Clearance*)

Penelitian ini dilakukan atas izin dari komisi etik Poltekkes Kemenkes TanjungKarang dengan No.330/KEPK-TJK/V/2025 pada tanggal 14 Mei 2025. Penelitian ini tidak menimbulkan risiko terhadap lingkungan karena limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini dikumpulkan dan diolah melalui prosedur pengelolaan limbah. Limbah sediaan preparat dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam safety box, dan diolah sesuai dengan prosedur yang berlaku. Sementara limbah larutan uji rendaman pucuk daun jati yang telah diperiksa dibuang ke saluran pembuangan limbah untuk memastikan limbah tersebut tidak membahayakan lingkungan.