

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 lama penyimpanan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) sebagai alternatif pewarna eosin 2%. Sedangkan variabel terikat (dependen) yaitu kualitas sediaan telur cacing. Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 60% dengan lama penyimpanan ekstrak 1 hari, 6 hari dan 12 hari dan kontrol positif menggunakan eosin 2%. Pengulangan dilakukan sebanyak 9 kali yang didapat dari perhitungan menggunakan rumus Federer yakni $(t-1)(n-1) \geq 15$ 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 etanol daun jati (*Tectona grandis L*) dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Mei 2025.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini merupakan daun jati (*Tectona grandis L*) dengan lama penyimpanan ekstrak 1 hari, 6 hari dan 12 hari. Daun jati (*Tectona grandis L*) diperoleh dari Desa Komerang Putih, Kecamatan Gunung Sugih, Kabupaten Lampung Tengah dengan karakteristik daun yang berada di pucuk sampai nodus ketiga dari batang baik yang masih menggulung maupun yang sudah membuka, dan memiliki warna hijau kemerahan dapat dilihat pada lampiran 3, dijadikan ekstrak lalu dibuat pengenceran dengan konsentrasi yaitu 60% yang digunakan sebagai larutan pengganti eosin 2% dalam pemeriksaan telur cacing *Ascaris lumbricoides* dapat dilihat pada lampiran 4. Telur cacing *Ascaris lumbricoides* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Parasitologi FKUI dapat dilihat pada lampiran 10.

D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil	Skala
1	Independen					
	Lama penyimpanan ekstrak etanol daun jati (<i>Tectona grandis L</i>)	Waktu penyimpanan 1 hari, 6 hari, 12 hari ekstrak etanol daun jati (<i>Tectona grandis L</i>) yang digunakan sebagai alternatif pewarna pada pemeriksaan telur cacing <i>Ascaris lumbricoides</i>	Menghitung lama hari penyimpanan	Kalender	Ekstrak etanol daun jati (<i>Tectona grandis L</i>) dengan lama penyimpanan 1 hari, 6 hari dan 12 hari	Ordinal
2	Dependen					
	Kualitas sediaan telur cacing <i>Ascaris lumbricoides</i>	Hasil pemeriksaan mikroskopis sediaan telur cacing <i>Ascaris lumbricoides</i> antara lain kontras latar belakang, warna telur dan bagian telur <i>Ascaris lumbricoides</i> menggunakan ekstrak etanol daun jati (<i>Tectona grandis L</i>) dengan eosin 2% sebagai kontrol positif	Melakukan pengamatan mikroskop	Mikroskop	Skor 1 = tidak kontras Skor 2 = kurang kontras Skor 3 = kontras terhadap eosin 2% (Oktari & Mu'tamir, 2017)	Ordinal

E. Teknik Pengumpulan data

Pada penelitian ini menggunakan 2 perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) konsentrasi 60% dan eosin 2% sebagai kontrol positif.

1. Prosedur Penelitian

- a. Permohonan izin diajukan kepada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk proses pembuatan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dapat dilihat pada lampiran 7.

- b. Pembelian Sampel Telur Cacing *Ascaris lumbricoides* di FKUI dapat dilihat pada lampiran 10.
 - c. Melakukan uji determinasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dapat dilihat pada lampiran 9.
 - d. Melakukan pengumpulan bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu daun jati (*Tectona grandis L*) dapat dilihat pada lampiran 3.
 - e. Menyiapkan alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*).
 - f. Pembuatan simplisia daun jati (*Tectona grandis L*) dapat dilihat pada lampiran 3.
 - g. Pembuatan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) di Laboratorium Botani jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dapat dilihat pada lampiran 3.
 - h. Penyimpanan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) pada kulkas dengan rentang suhu 10°C - 11°C.
 - i. Pembuatan ekstrak daun jati (*Tectona grandis L*) dengan pengenceran konsentrasi 60% dapat dilihat pada lampiran 4.
 - j. Dilakukan pemeriksaan mikroskopis telur cacing *Ascaris lumbricoides* dengan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) dengan konsentrasi 60% dan lama penyimpanan 1 hari, 6 hari, 12 hari dengan menggunakan mikroskop di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang dapat dilihat pada lampiran 4.
2. Metode pemeriksaan telur cacing
 Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode secara langsung yaitu *direct slide*.
 3. Prosedur kerja
 - a. Persiapan alat dan bahan
 1. Persiapan alat
 Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : mikroskop, *beaker glass* 100 ml, pipet tetes, rak tabung, lidi, tabung reaksi 10 ml, objek glass, *deck glass*, kertas lensa, pipet ukur 2 ml, vacuum pump, pisau, spatula,

neraca digital, corong, kertas saring, saringan, blender, *rotary evaporator*, batang pengaduk.

2. Persiapan bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*), etanol 96%, Eosin 2%, *aquades* steril dan sampel feses (+) telur cacing *Ascaris lumbricoides*.

3. Pembuatan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*)

a. Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia daun jati (*Tectona grandis L*) diambil sampel daun jati sebanyak 10kg kemudian dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih lalu tiriskan, daun jati daun jati (*Tectona grandis L*) di potong-potong dan dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung dengan cara ditutup menggunakan kain hitam. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu disaring menggunakan ayakan ukuran 60 mesh, kemudian letakkan pada wadah yang bersih dan kering (Al Kausar et al., 2023) dapat dilihat pada lampiran 3.

b. Pembuatan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*)

Serbuk simplisia 900 gr direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 5 liter, diaduk dengan batang pengaduk kemudian diamkan selama 3 x 24 jam dalam wadah toples 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 *vacum rotary evaporator* kurang lebih 6-10 jam dengan suhu 40°C untuk memisahkan solven dengan ekstrak untuk ekstrak yang kental. Setelah itu dilakukan pengenceran 60% menggunakan *aquadest* steril dan dilakukan perhitungan menggunakan rumus pengenceran dapat dilihat pada lampiran 3.

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

Keterangan:

V1 = Volume larutan uji yang dipipet (ml)

%1 = Konsentrasi larutan (%)

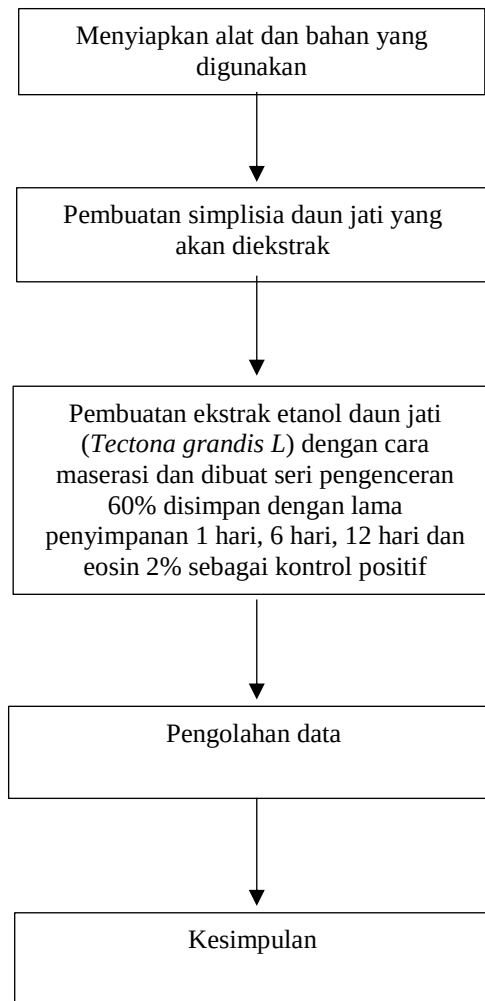
V2 = Volume larutan yang diinginkan (ml)

%2 = Konsentrasi yang akan dibuat (%)

c. Pembuatan sediaan preparat telur cacing *Ascaris lumbricoides*

1. Pembuatan sediaan preparat menggunakan ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) dengan konsentrasi 60%. Ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis L*) diaplikasikan pada objek kaca dengan tetesan sebanyak 1 tetes. Selanjutnya, sampel telur diambil menggunakan lidi dan dicampurkan dengan ekstrak daun jati hingga homogen. Campuran tersebut kemudian ditutup menggunakan deck glass dan diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10x dan 40x.
2. Pembuatan preparat menggunakan kontrol positif (eosin 2%)
Eosin 2% ditetaskan pada kaca objek sebanyak 1 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 (Octavia et al., 2024).
3. Interpretasi hasil pemeriksaan
Interprestasi hasil pada pemeriksaan telur cacing dilihat berdasarkan penilaian skala (skoring) 1,2, dan 3. Kriteria penilaian :
Skor 1 : diberikan apabila latar belakang tidak kontras, telur cacing tidak menyerap warna, bagian telur tidak terlihat.
Skor 2 : diberikan apabila latar belakang kurang kontras , telur cacing kurang menyerap warna, bagian telur kurang jelas terlihat.
Skor 3 : diberikan apabila latar belakang kontras, telur cacing menyerap warna, bagian telur terlihat jelas.

4. Alur Penelitian



F. Pengolahan Data dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Pengolahan data didapatkan dari hasil pemeriksaan kualitas sediaan menggunakan pewarna alternatif daun jati (*Tectona grandis L*) dalam mengidentifikasi telur cacing *Ascaris lumbricoides* pada penyimpanan 1 hari, 6 hari dan 12 hari dalam bentuk *score* dinyatakan dalam nilai 1, 2 dan 3.

2. Analisa Data

Analisa data yang dipakai yaitu menggunakan uji *Shapiro-wilk* untuk melihat data terdistribusi normal atau tidak, kemudian dilanjut pengujian hipotesa *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

G. Ethical Clearence (Persetujuan etik)

Penelitian ini dilaksanakan atas izin dari komisi etik No.204/KEPK-TJK/IV/2025 dapat dilihat pada lampiran 6. Penelitian ini tidak akan mengakibatkan risiko terhadap lingkungan. Limbah yang dihasilkan selama proses penelitian ini dikumpulkan dan diolah dengan prosedur penanganan limbah yang telah ditetapkan. Limbah dari preparat dikumpulkan kemudian dibuang ke kotak safety box selanjutnya diproses dengan penanganan limbah. Sisa limbah reagen eosin 2% dan sisa limbah larutan uji ekstrak etanol daun jati yang telah dilakukan pemeriksaan dibuang kedalam saluran pembuangan untuk menghindari potensi bahaya bagi lingkungan. Sementara itu, suspensi telur cacing *Ascaris lumbricoides* disimpan didalam kulkas dengan suhu 4°C.