

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan Penelitian yang menggunakan rancangan *true eksperiment* dan desain *post test control only group* karena tidak dilakukan pretest terhadap sampel sebelum perlakuan. Terdapat kelompok eksperimen (intervensi ekstrak daun *Carica papaya* L.) dan kelompok kontrol (kontrol positif dengan intervensi pirantel pamoat 0,5% dan kontrol negatif tanpa intervensi pirantel pamoat). Sampel penelitian baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dipilih secara acak. Lokasi penelitian ini berada di rumah di daerah Bantul Yogyakarta.

B. Lokasi Penelitian

1. Lokasi pengambilan sampel

Sampel diambil di tempat pemotongan ayam pasar terban kota Yogyakarta pada pukul 14.00 WIB. Waktu tempuh dari lokasi pengambilan sampel menuju ke lokasi penelitian kira-kira 20 menit.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian ini berlokasi di rumah di daerah Bantul, Yogyakarta. Perlakuan dan observasi dilakukan di rumah tersebut.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah cacing *Ascaridia galli*, sedangkan sampelnya adalah 5 cacing *Ascaridia galli* yang didapatkan dari tempat pemotongan ayam pasar Terban kota Yogyakarta.

1. Kriteria inklusi : Cacing yang masih hidup dan bergerak, ukuran tubuh sama, jantan ataupun betina.
2. Kriteria eksklusi : Cacing yang sudah mati atau tidak dapat bergerak.

Terdapat 6 kelompok perlakuan (dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80%) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol positif (Pirantel pamoat 0,5%) dan kontrol negatif (aquades).

Untuk menghitung estimasi besar sampel digunakan rumus Frederer sebagai berikut :

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

Keterangan :

n = besar sampel

t = jumlah kelompok

Dengan menggunakan rumus Frederer maka estimasi besar sampel yang akan dicobakan adalah :

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

$$(n - 1) (6 - 1) \geq 15$$

$$6n - n - 6 + 1 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah minimal empat replikasi. Jadi jumlah cacing *Ascaridia galli* yang diperlukan adalah sebanyak 160 cacing.

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas di dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80%.

b. Variabel terikat

Variabel terikat di dalam penelitian ini adalah jumlah kematian cacing *Ascaridia galli*

c. Variabel luar terkendali

1) Jenis Cacing

2) Ukuran Cacing

3) Suhu Ruangan

d. Variabel luar tak terkendali

1) Umur cacing

2) Umur daun pepaya

2. Definisi Operasional

- a. Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) adalah hasil ekstraksi yang diambil dari simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta yang kemudian di ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% di lab farmasetika UMY. Skala pengukuran variabel ini adalah rasio.
- b. Jumlah kematian cacing *Ascaridia* galli adalah banyaknya cacing *Ascaridia gallii* yang mati setelah pemberian perlakuan. Pengamatan dilakukan tiap 1 jam selama 12 jam. Cacing dianggap mati adalah cacing yang tidak bergerak saat digerakan. Skala pengukuran variabel ini adalah rasio dengan alat ukur Jam.
- c. Cacing *Ascaridia* galli adalah cacing yang mempunyai genus sama dengan *Ascaris lumbricoides* dan biasanya menginfeksi unggas. cacing yang digunakan diperoleh dari Tempat pemotongan ayam pasar Terban kota Yogyakarta.
- d. Lethal Concentration LC₅₀ dan LC₉₀ adalah konsentrasi (%) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang dapat membunuh 50% dan 90% populasi cacing *Ascaridia* galli.
- e. Lethal Time LT₅₀ dan LT₉₀ adalah waktu yang dibutuhkan (jam) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang membunuh 50% dan 90% populasi cacing *Ascaridia* galli.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan antara lain :

- a. Cawan Petri

- b. Batang pengaduk
- c. Pinset anatomis
- d. Toples
- e. *Handskoer*
- f. Gelas ukur
- g. Takaran
- h. jam
- i. Timbangan
- j. Penggaris
- k. Alat tulis

2. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain :

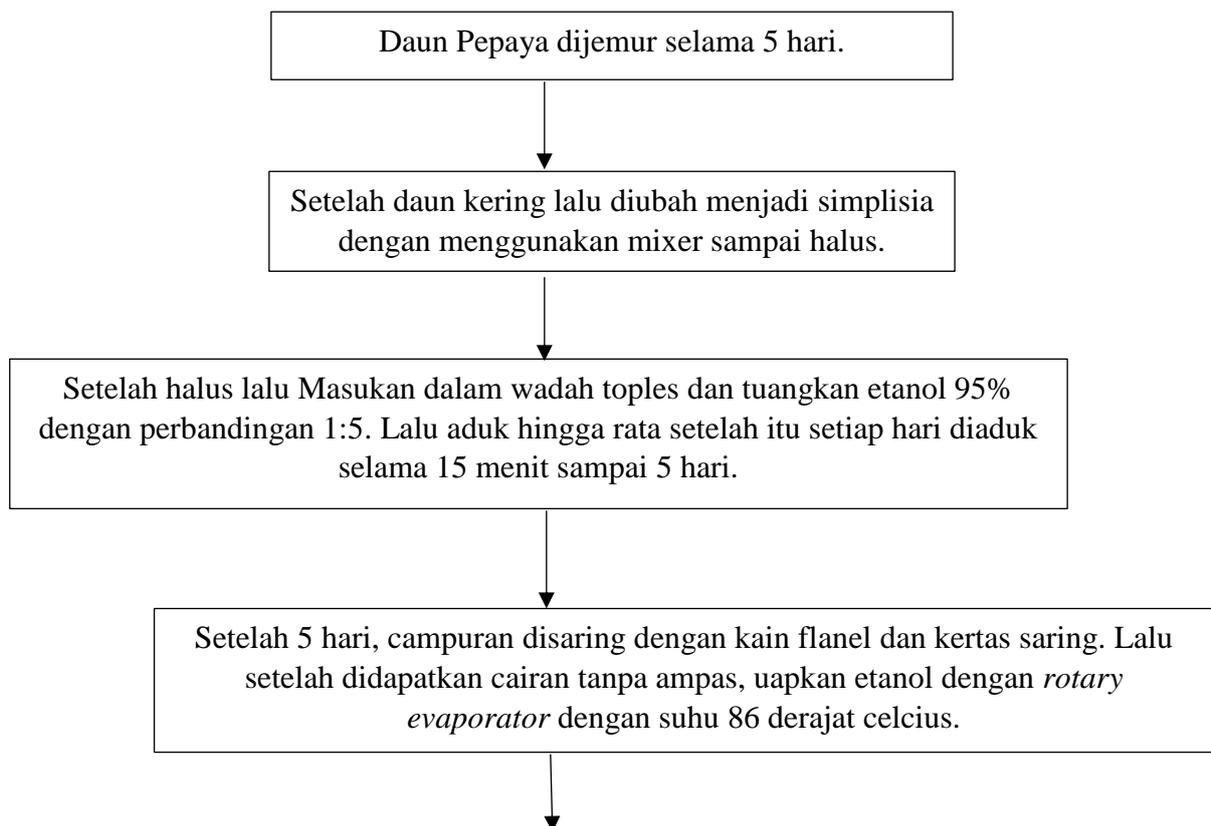
- a. Cacing *Ascaridia galli*.
- b. Aquades.
- c. Larutan Uji Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60% dan 80%.
- d. Pirantel pamoat 0.5%.

F. Cara Kerja

1. Persiapan

- a. Pembuatan ekstrak

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dibuat di Laboratorium Farmasetika UMY dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Tahapan pembuatan ekstrak dengan teknik maserasi adalah sebagai berikut :



Lanjutkan dengan *waterbathing* pada suhu 80 derajat celcius selama kurang lebih satu minggu dan terus diaduk hingga ekstrak menjadi kental.



Didapatkan ekstrak daun pepaya.

b. Penentuan Konsentrasi

Konsentrasi ekstrak etanol daun pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diperlukan adalah :

1) Konsentrasi 5% = 5gr/100ml aquades = 0,05gr/ml aquades = 50 mg/ml aquades

2) Konsentrasi 10% = 10gr/100ml aquades = 0,10 gr/ml aquades = 100 mg/ml aquades

3) Konsentrasi 20% = 20gr/100ml aquades = 0,20 gr/ml aquades = 200 mg/ml aquades

4) Konsentrasi 40% = 40gr/100ml aquades = 0,40 gr/ml aquades = 400 mg/ml aquades

5) Konsentrasi 60% = 60 gr/100 ml aquades = 0,60 gr/ml aquades = 600 mg/ml aquades

6) Konsentrasi 80% = 80 gr/100 ml aquades = 0,80 gr/ml aquades = 800 mg/ml aquades

c. Penentuan dosis untuk kontrol positif

Larutan Pirantel pamoat 0,5% digunakan sebagai kontrol positif terhadap cacing *Ascaridia galli*. Pembuatan konsentrasi pirantel pamoat 0,5% adalah dengan cara mencampur 5mg pirantel pamoat dengan 1ml aquades.

2. Pengambilan Sampel

Sampel yang berupa cacing *Ascaridia galli* diambil dari tempat pemotongan hewan pasar Terban kota Yogyakarta. Waktu tempuh yang di butuhkan dari pasar Terban kota Yogyakarta sampai ke lokasi penelitian kira-kira 20 menit. Sampel dibawa menggunakan sepeda motor. Sebelum dilakukan pengujian sampel dicek terlebih dahulu. Jika ada sampel yang tidak memenuhi kriteria inklusi maka tidak dilakukan pengujian pada sampel tersebut.

3. Pelaksanaan Uji Antihelminik

Uji Antihelminik dilakukan pada 6 kelompok uji dan 2 kelompok kontrol dengan 4 kali pengulangan sesuai perhitungan estimasi besar sampel. Kelompok kontrol negatif direndam pada aquades dan kelompok kontrol positif direndam pada Pirantel pamoat 0,5%. Kelompok uji I-VI direndam dalam suspensi ekstrak etanol daun pepaya (secara berturut-turut 5%, 10%, 20%, 40%, 60% dan 80%). Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor cacing *Ascaridia galli*. Kemudian kelompok tersebut didiamkan pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan setiap 1 jam.

Pengamatan dilakukan dengan melihat apakah cacing mati, paralisis, atau masih normal setelah didiamkan. Cacing-cacing tersebut dicek dengan batang pengaduk, apabila cacing diam maka dipindahkan ke dalam air hangat dengan suhu 50°C. Jika cacing tersebut tetap diam maka cacing tersebut telah mati, tetapi jika cacing tersebut bergerak maka cacing tersebut hanya mengalami paralisis.

Berdasarkan hasil uji antihelminik ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) diperoleh data mortalitas cacing *Ascaridia galli*.

G. Analisis Data

Setelah didapatkan data tentang jumlah cacing *Ascaridia galli* yang mati, selanjutnya dilakukan pengolahan dan analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS

20.0. Terdapat beberapa uji statistik yang dilakukan, yaitu :

1. Uji normalitas (Kolmogorov–Smirnov/Shapiro-Wilk)

Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk digunakan untuk mengetahui normalitas distribusi data dan penting untuk menentukan uji statistik yang akan dilakukan kemudian.

2. Uji varians (*Levene's test*)

Levene's test digunakan untuk menguji kesamaan varians.

3. Uji Kurskal Wallis

Jika sebaran data tidak normal dan atau varians data tidak sama maka digunakan uji alternatif yaitu uji Kurskal Wallis.

4. Uji Mann-Whitney

Dilakukan setelah Uji Kurskal Wallis untuk mengetahui hubungan tiap-tiap kelompok uji.

5. Analisis Probit

Analisis probit digunakan untuk menilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*), LT_{50} (*Lethal Time 50*), LC_{90} (*Lethal Concentration 90*) dan LT_{90} (*Lethal Time 90*).