

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan eksperimen murni dengan metode *post test only control group design*. Desain penelitian ini dipilih karena perlakuannya dilakukan oleh peneliti untuk mengetahui hasil perlakuan secara langsung dan tidak dilakukan pretes terhadap sampel sebelum perlakuan. Selain itu, karena telah dilakukan randomisasi baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol, kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. Dengan cara ini memungkinkan dilakukan pengukuran pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen yang satu dengan cara membandingkan dengan kelompok eksperimen yang lain dan kelompok kontrol.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi

Populasi penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang didapatkan dari laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran UMY.

Sampel

1. Kriteria Inklusi

- a. Digunakan larva instar III, umur 4-5 hari yang bercirikan ukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas, corong pernafasan berwarna coklat

- b. Kehitaman. (mudah diidentifikasi dari pada instar I dan II serta tidak cepat berubah menjadi pupa seperti pada instar IV).

2. Kriteria Ekslusi

- a. Larva pasif, yaitu apabila larva tidak berespon saat diberikan rangsangan cahaya menggunakan lampu senter atau ketukan jari pada media pembiakan larva.
- b. Larva terlihat tidak sehat, yaitu terjadi luka pada saat pemindahan larva dengan pipet.

Terdapat 9 kelompok perlakuan (dengan konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, ,5%, 2%, 2,5%, dan 3%) ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) dan 2 kelompok kontrol, yaitu kelompok kontrol positif (larutan temephos 1 ppm) dan kontrol negatif (air biologis). Pada setiap sampel dilakukan 3 kali replikasi. Jumlah ini ditentukan berdasarkan perhitungan dengan menggunakan rumus Federer:

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

Keterangan :

t = perlakuan

r = replikasi

15 = factor nilai derajat kebebasan

Besar sampel yang digunakan adalah 20 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dalam 60 ml larutan bahan uji (Nugroho, 2013). Pada penelitian ini

terdapat 9 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol dengan dilakukan 3 kali replikasi pada setiap bahan uji. Jadi, jumlah seluruh sampel yang dibutuhkan sebanyak 660 larva *Aedes aegypti*.

C. Lokasi dan Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan selama bulan januari 2017 dan pembuatan ekstrak dilaksanakan dua minggu masa kerja.

Penelitian dilakukan di laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran UMY, sedangkan pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

D. Variabel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan variabel – variabel sebagai berikut.

1. Variabel bebas: ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) pada berbagai konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%,1%, 1,5%, 2%,2,5%, 3%.
2. Variabel tergantung: persentase kumulatif kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.
3. Variabel pengganggu terkendali: sumber air dan pakan larva *Aedes aegypti*.
4. Variabel pengganggu tidak terkendali: variasi biologis dan variasi individual larva nyamuk *Aedes aegypti*.

E. Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini adalah:

1. Ekstrak buah mahkota dewa adalah bahan kental yang dihasilkan dari proses ekstraksi buah mahkota (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) Konsentrasi

ekstrak yang dibutuhkan untuk penelitian ini yaitu 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3%. Konsentrasi tersebut diperoleh dari ekstrak yang telah dibuat (100%) dengan cara pengenceran menggunakan air biologis untuk mendapatkan konsentrasi yang dibutuhkan. Pengenceran dilakukan menggunakan rumus $V_1.M_1 = V_2.M_2$.

2. Larva *Aedes aegypti* instar III adalah larva yang berumur 4-5 hari.
3. Mortalitas/kematian larva *Aedes aegypti* mempunyai kriteria: larva tidak bergerak atau tidak berespon terhadap rangsangan cahaya menggunakan lampu senter, sentuhan menggunakan sendok kecil, dan ketukan jari pada media pengamatan larva.
4. *Lethal Concentration* LC_{50} dan LC_{90} adalah kemampuan ekstrak buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) untuk membunuh 50% dan 90% larva dalam konsentrasi tertentu.
5. *Lethal Time* LT_{50} dan LT_{90} adalah waktu yang dibutuhkan ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) untuk membunuh 50% dan 90% larva dalam jam tertentu.

F. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini diantaranya adalah gelas plastik ukuran 200 ml, gelas ukur dan pipet ukur, pipet untuk mengambil larva, tabung reaksi, sendok, kaca pembesar, counter, alat tulis. Bahan yang digunakan diantaranya adalah larva *Aedes aegypti* instar III, ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) dengan pelarut metanol dalam berbagai

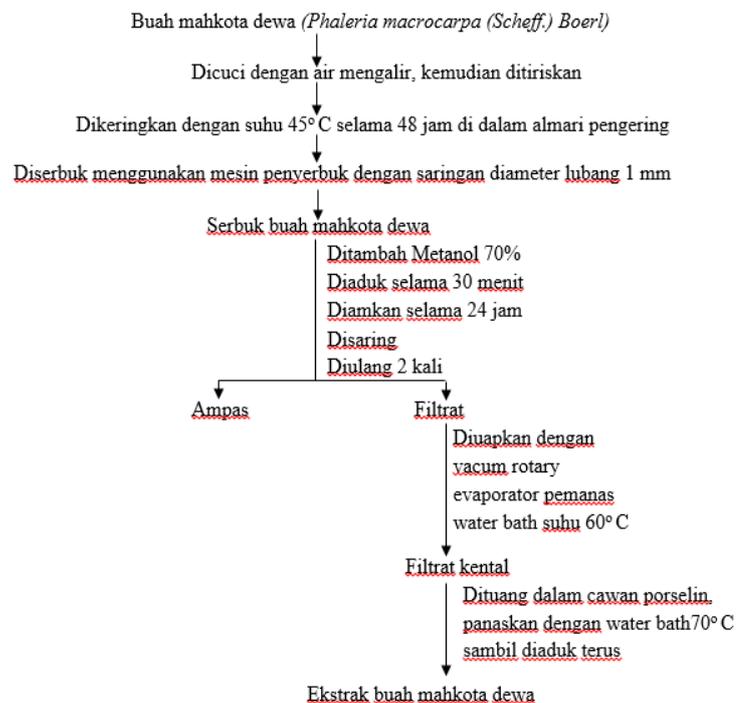
konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3%, temephos 1 ppm, air biologis, pakan ikan sebagai makanan larva.

G. Jalannya Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

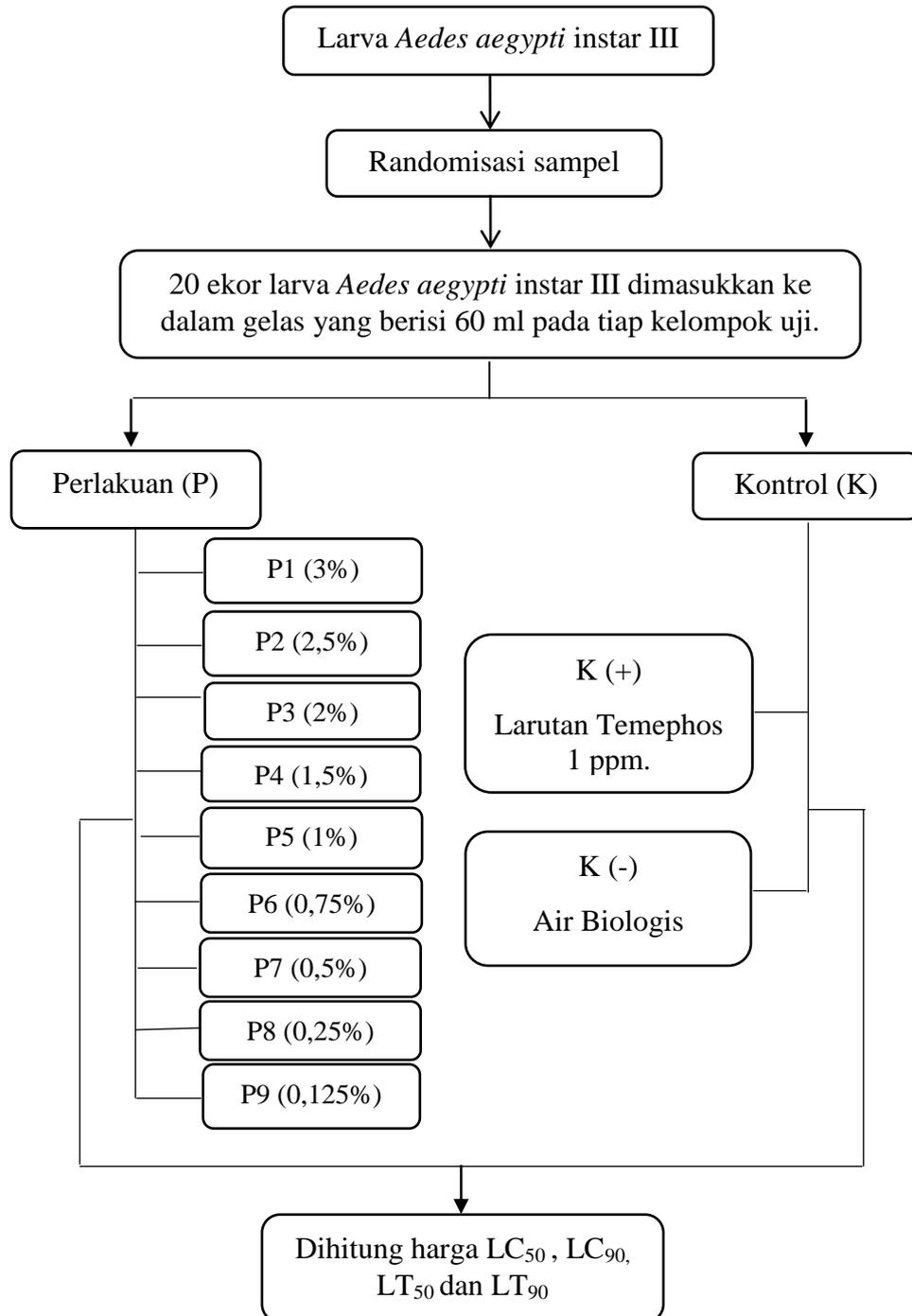
Siapkan semua alat yang akan digunakan dalam penelitian pada satu meja untuk mempermudah jalannya penelitian. Sebelumnya alat – alat dibersihkan dengan air ledeng kemudian dibiarkan kering. Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) didapatkan dari pembudidayaan mahkota dewa di daerah Kulon Progo, Yogyakarta pada bulan mei 2016.

Pembuatan ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada (LPPT UGM). Skematis pembuatan ekstrak buah mahkota dewa adalah sebagai berikut:



Ekstrak yang sudah ada (konsentrasi 100%) diencerkan dengan air biologis untuk mendapatkan deret konsentrasi yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 2%, 2% dan 3%

2. Uji efek larvasida



3. Pengamatan dan perhitungan

Mortalitas larva dihitung setiap 4 jam (4, 8, 12, 16, 20, 24 jam) setelah perlakuan (Rinjani, 2009). Kemudian dibuat prosentase kumulatif. Prosentase kumulatif dihitung dengan cara membagi jumlah kumulatif mortalitas larva pada saat diamati dengan jumlah larva sebelum diamati dikalikan 100%. Prosentase kumulatif larva dikoreksi dengan Formula Abbot apabila angka kematian pada kelompok kontrol 5-9%.

$$\text{Formula Abbot/ } A = (B-C/100-C) \times 100$$

Keterangan:

A = Prosentase mortalitas yang dikoreksi.

B = Prosentase mortalitas kelompok uji.

C = Prosentase mortalitas kelompok kontrol.

Efektivitas ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) sebagai larvasida *Aedes aegypti* diukur dengan menghitung LC₅₀, LC₉₀, LT₅₀ dan LT₉₀ dengan analisis *probit*.

H. Uji Validitas dan Reliabilitas

1. Validitas

Validitas pengukuran dapat ditingkatkan dengan melakukan penyamaan jumlah, ukuran, ciri subjek, dan kondisi sampel penelitian (*matching*), memasukkan sampel secara acak (randomisasi dalam pengelompokan sampel penelitian) kedalam gelas plastik untuk diuji, menggunakan alat pengukur waktu yang tepat, dan dengan pengoreksian mortalitas larva dengan

menggunakan Formula Abbot apabila pada kelompok kontrol terdapat kematian 5-9%.

2. Reliabilitas

Reliabilitas penelitian dapat ditingkatkan dengan melakukan 3 kali replikasi atau pengulangan pada tiap pengujian.

I. Analisa Data

Uji hipotesis bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok konsentrasi ekstrak 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif. Uji pertama yang dilakukan yaitu uji normalitas, uji normalitas terbagi menjadi dua yaitu uji *Kolmogrov-Smirnov*, apabila sampel lebih dari 50 dan uji *Shapiro-Wilk*, apabila sampel kurang dari 50. Pada uji kali ini menggunakan *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel kurang dari 50, dari hasil uji tersebut didapatkan persebaran data yang tidak normal sehingga uji selanjutnya menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Pada uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil bermakna ($p < 0,05$), maka dapat dilanjutkan dengan uji *post-hoc*. Uji *post-hoc* untuk uji *Kruskal Wallis* adalah *Mann Whitney*. Uji statistik yang digunakan untuk mendapatkan data LC_{50} , LC_{90} , LT_{50} dan LT_{90} menggunakan analisis *Probit*. Analisis secara statistik dilakukan dengan menggunakan program komputer *SPSS 16*.

J. Kesulitan Penelitian

Kesulitan yang ditemukan dalam penelitian ini antara lain, pengumpulan larva *Aedes aegypti* karena untuk mendapatkan larva *Aedes aegypti* wadah pengembangbiakan harus ditempatkan pada tempat yang cocok sesuai dengan

lingkungan yang mendukung untuk nyamuk *Aedes aegypti* berkembang biak. Sehingga apabila lingkungan tidak cocok jumlah telur yang terdapat pada tiap wadah jumlahnya sedikit dan tidak semua dapat menetas sehingga larva akan sulit didapat, kesulitan lain yang diperoleh yaitu pada saat pengamatan larva yang mati karena hasil ekstraksi buah mahkota dewa yang keruh. Solusi yang dilakukan yaitu, peneliti mengembangbiakan telur dari nyamuk dewasa tersebut lalu ditetaskan. Untuk mengamati larva, peneliti menggunakan senter saat mengamati larva yang mati agar terlihat lebih jelas.

K. Etika Penelitian

Pada penelitian ini, pengumpulan larva menggunakan kertas saring yang ditaruh pada pot hitam, lalu diletakan pada sudut-sudut ruangan dengan pemberian label dan diamati setiap hari. Selanjutnya setelah terdapat telur pada kertas saring, telur dibiarkan menetas pada wadah dan diamati juga setiap hari. Setelah larva berumur 4-5 hari, beberapa diamati untuk memastikan larva tersebut adalah *Aedes aegypti*, setelah itu larva *Aedes aegypti* siap untuk dikembangbiakan didalam kotak berjaring untuk menjadi nyamuk. Setelah menjadi nyamuk, diberikan larutan gula sebagai asupan makanan dan marmut dimasukan kedalam kotak tersebut agar darahnya dapat dihisap oleh nyamuk betina sehingga kebutuhan protein dapat tercukupi untuk proses bertelur. Setelah telur cukup jumlahnya, dilakukan pengembangbiakan telur menjadi larva instar III dan diletakan pada gelas plastik terbuka, selanjutnya dilakukan pengamatan.

Larva yang mati ditaruh pada tisu untuk memudahkan penghitungan lalu dikumpulkan pada satu wadah plastik dan dibuang kepembuangan sampah dengan pemberian label, sedangkan pada larva yang masih hidup, dibuat mati terlebih dahulu lalu dibuang ke saluran pembuangan agar tidak mencemari lingkungan sekitar.