

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan eksperimental laboratorium. Dengan membandingkan perbedaan pertumbuhan larva dari lalat *Chrysomya megacephala* dengan menggunakan media tumbuh berupa bangkai tikus yang diinduksi Sianida dan bangkai tikus yang mati dengan dislokasi servikal (normal) untuk diamati pertumbuhan larva meliputi panjang, berat dan durasi (lama waktu) pertumbuhan.

#### **4.2 Sampel Penelitian**

##### **4.2.1 Populasi**

Populasi yang digunakan adalah larva lalat *Chrysomya megacephala* yang tumbuh pada media dengan dan tanpa kandungan Sianida dosis lethal.

##### **4.2.2 Sampel**

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 10 ekor larva lalat *Chrysomya megacephala* dari media tumbuh dengan dan tanpa kandungan Sianida. Cara pemilihan sampel adalah 50 lalat *Chrysomya megacephala* dibiakkan di masing-masing tikus Wistar yang mati dengan cara berbeda kemudian diambil masing-masing 10 larva terbesar pada kedua media tumbuh.

### 4.2.3 Pengulangan Sampel

Sampel penelitian in vivo adalah satu ekor tikus Wistar yang diinduksi dengan Sianida dan satu ekor tikus Wistar yang dilakukan dislokasi servikal. Perhitungan besarnya pengulangan pada sampel tikus atau pengambilan larva jika ada dua perlakuan dan dilakukan pengambilan larva sebanyak 10 kali melalui rumus sebagai berikut (Federer 1977) :

$$P(n-1) > 18$$

P: jumlah perlakuan tikus

n: banyak larva

Pada penelitian ini  $P = 2$  sehingga jumlah pengulangan adalah:

$$2(n-1) > 18$$

$$2n-2 > 18$$

$$2n > 18 + 2$$

$$2n > 20$$

$$n > 10$$

Jadi dalam penelitian ini jumlah banyak sampel larva tiap perlakuan adalah dilakukan 10 kali pengambilan larva. Maka total jumlah larva yang diperlukan adalah 20 larva. Semua perlakuan diletakkan pada suhu kamar dengan kelembaban dengan intensitas cahaya yang sama.

### 4.2.4 Cara Pemilihan Media Tumbuh Larva (memakai kriteria inklusi)

Sampel dipilih dengan cara simple randomized dengan menggunakan kriteria inklusi. Kriteria inklusi adalah kriteria yang diperoleh dari dalam diri hewan tersebut.

- Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah:
  1. Tikus Wistar berat 170 gram
  2. Tikus Wistar sehat
  3. Tikus Wistar jantan

### **4.3 Variabel Penelitian**

#### **4.3.1 Studi In vivo**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat 150-250 gram yang diinduksi Sianida :

1. Kontrol : Tikus didislokasi servikal (tanpa kandungan Sianida)
2. Perlakuan : Tikus diinduksi Sianida 5 mg/KgBB

#### **4.3.2 Variabel Independen**

Variabel independen dalam penelitian ini adalah media tumbuh dengan kandungan Sianida dan media tumbuh tanpa kandungan Sianida yaitu dengan cara dislokasi servikal.

#### **4.3.3 Variabel Dependen**

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah pertumbuhan larva lalat *Chrysomya megacephala* pada media tumbuh dengan dan tanpa kandungan Sianida.

#### 4.3.4 Definisi Operasional

1. Lalat *Chrysomya megacephala* berwarna hijau metalik dengan ciri memiliki sayatan jernih, seluruh tubuh tertutup dengan bulu keras. Mempunyai abdomen berwarna hijau metalik dengan mata berwarna merah dan bagian mulutnya berwarna kuning. Panjang lalat kurang lebih 8mm dari kepala sampai ujung abdomen. Lalat untuk penelitian ini ditangkap di lingkungan Universitas Brawijaya
2. Larva lalat *Chrysomya megacephala* berwarna putih pucat sedikit kekuningan bentuk lebih mirip kerucut. Tubuh larva terdiri 12 segmen antara segmen dibatasi duri kecil melingkar dari pemeriksaan mikroskopis yaitu peritrem dan jumlah slit posterior spirakel dapat menunjukkan stadium larva.
3. Pertumbuhan larva dinilai berdasarkan lama pencapaian setiap stadium siklus hidup (dihitung dari jumlah larva, pupa, dewasa), panjang dan berat larva. Panjang diukur dengan menggunakan jangka sorong dan penggaris mm dan berat ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.
4. Larva lalat *Chrysomya megacephala* memiliki tiga stadium yang dibedakan melalui belahan spirakel. Larva stadium dua memiliki dua belahan. Sedangkan larva stadium tiga memiliki tiga belahan (*Amorium, J.A and O.B Riberio, 2001*).
5. Media tumbuh yang digunakan adalah berupa bangkai tikus *Rattus novergicus* galur *Wistar* yang mempunyai berat 170 gram. Media tumbuh dengan kandungan Sianida adalah bangkai tikus *Rattus novergicus* galur *Wistar* yang mati akibat pemberian Sianida 5 mg/KgBB dengan cara per oral.

Media tumbuh tanpa kandungan Sianida adalah bangkai tikus *Rattus novergicus* galur *Wistar* yang mati akibat dislokasi servikal.

6. Tikus yang digunakan tikus *Wistar* yang merupakan tikus hasil kawinan dari galur tikus albino yang berasal dari spesies *Rattus novergicus*. Tikus *Wistar* mempunyai sepasang gigi incisors bagian atas dan bawah, kepalanya lebar, telinganya panjang dan mempunyai ekor yang panjangnya tidak lebih dari panjang tubuhnya. Tikus dibeli di pasar hewan daerah kota Malang.
7. Sianida yang dipakai adalah sianda jenis *Salts Cyanide* (sianida dalam bentuk garam mudah menguap dan mudah larut air) yaitu Natrium Sianida yang dibeli ditoko bahan kimia di daerah kota Malang.
8. Jumlah dosis induksi Sianida 5 mg/KgBB setiap tikus, sedangkan kelompok kedua dilakukan dengan cara dislokasi servikal.

#### **4.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

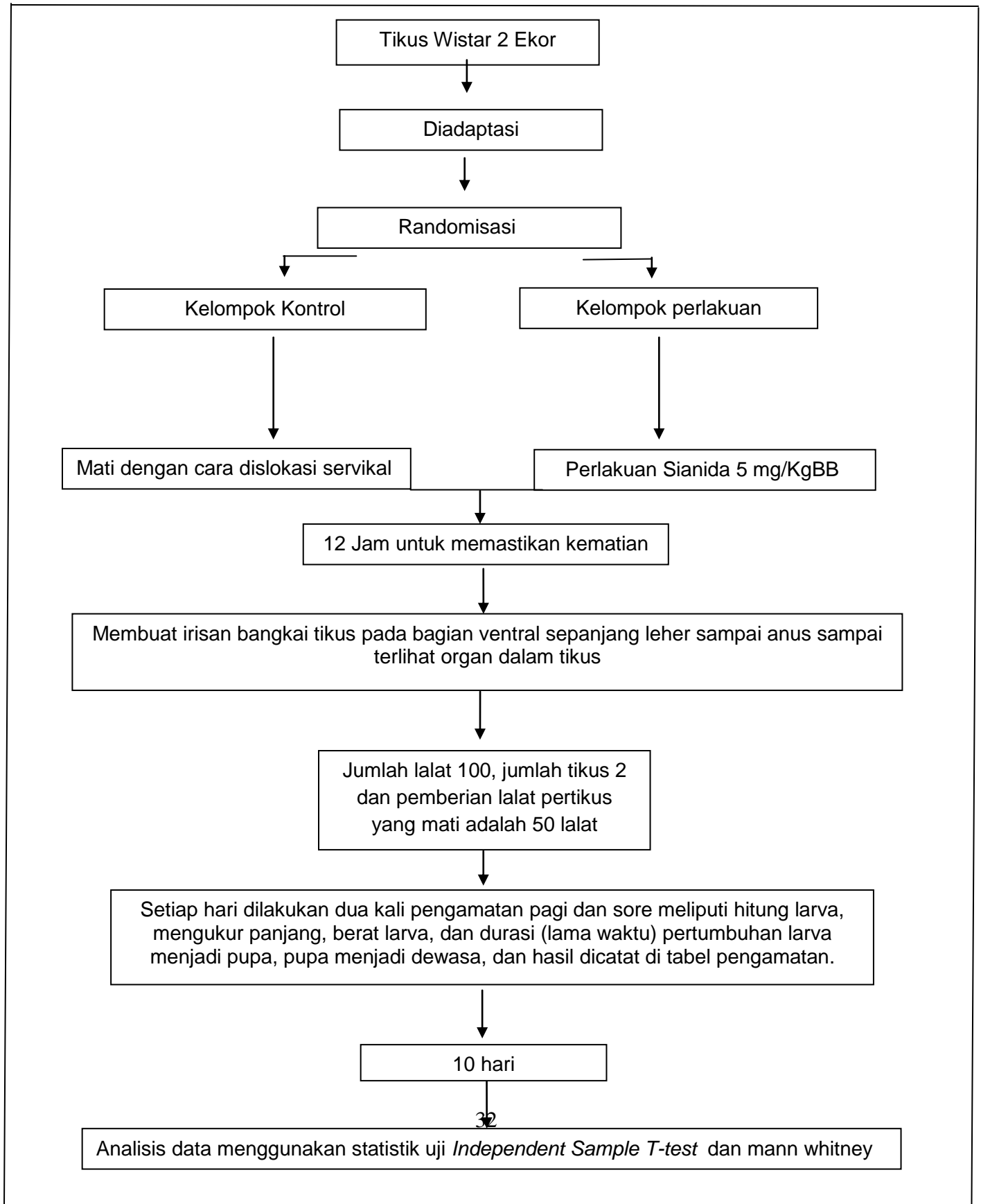
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Oktober-Desember 2017

##### **4.4.1 Alat dan Bahan Penelitian**

1. Alat : *loop* (kaca pembesar), pinset, penggaris mm, jangka sorong, alat sonde, kandang pembiakan lalat 2 kandang dengan ukuran 40 cm x 40 cm, Mikroskop, timbangan analitik, pemanas air, *handscoon*, cutter/silet kecil, Masker, alat gerus Natrium Sianida dan mika plastik untuk alas tempat matinya tikus.

2. Bahan : *Tikus Rattus novergicus strain wistar* 2 ekor dengan berat 170 gram, lalat *Chrysomya megacephala* (lalat hijau pemakan daging busuk) 100 lalat, Natrium Sianida (Sianida dalam bentuk garam), air panas 40°C untuk mematikan larva (Duke, 2004), aquades untuk melarutkan Natrium Sianida.

#### 4.4.2 Alur Kerja Penelitian



#### 4.4.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Lima puluh ekor lalat *Chrysomya megacephala* yang berhasil ditangkap, dimasukkan ke dalam 2 kandang ukuran 40 cm x 40 cm yang telah disediakan. Satu kandang pertama diisi dengan satu bangkai tikus yang mati dengan perlakuan fisik yakni didislokasi servikal. Satu kandang kedua diisi dengan satu bangkai tikus yang mati dengan pemberian Natrium Sianida 5 mg/KgBB dengan cara per oral. Setelah kedua tikus Wistar tersebut mati dengan cara berbeda kemudian tikus dibuat irisan pada garis tengah tubuh bagian ventral sepanjang leher sampai dekat anus sampai tampak organ dalam tubuh tikus.
2. Setiap hari dilakukan dua kali pengamatan yaitu menghitung jumlah larva yang dihasilkan hingga menjadi pupa.
3. Bila ditemukan larva, diambil sepuluh larva dan dimasukkan ke air panas 40<sup>0</sup> selama 15 detik sampai mati. Kemudian diamati :
  - a. Panjang larva, pengukuran ini dilakukan untuk menunjukkan bahwa kandungan Sianida berpengaruh terhadap panjang perkembangan stadium larva.
  - b. Berat larva, pengukuran ini dilakukan untuk menunjukkan bahwa kandungan Sianida berpengaruh terhadap berat perkembangan stadium larva (Duke, 2004).
  - c. Pemeriksaan spirakel dilakukan ketika larva telah besar yaitu larva stadium 2 dan 3 untuk diiris tipis posterior tubuhnya.



- d. Cara mengamati stadium larva yaitu larva dimasukkan ke dalam air panas 40° selama 15 detik, bagian posterior larva diiris tipis, bagian posterior diletakkan di objek glass lalu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali
- e. Larva yang tersisa dibiarkan hidup hingga menjadi lalat dewasa.

### **Induksi**

Tikus Wistar dilakukan adaptasi. Tikus 1 sebagai kontrol yaitu tikus mati dengan cara perlakuan fisik yaitu dengan cara dislokasi servikal. Tikus 2 diberi perlakuan dengan induksi Natrium sianida 5 mg/KgBB yang dimasukkan ke tubuh tikus dengan per oral. Tikus dipegang dan alat sonde (per oral) dimasukkan ke arah gi-tract. Ditunggu 20 menit untuk memastikan kandungan Natrium Sianida menyebar luas kedalam tubuh tikus sampai mati. Setelah dipastikan mati, tikus dibuat irisan pada garis tengah tubuh bagian ventral sepanjang leher sampai dekat anus sampai tampak organ dalam tubuh tikus. Setelah kedua tikus mati dan dibuat irisan sampai tampak organ dalam, tikus diletakkan di mika plastik sebagai alas agar pengamatan dan pengambilan larva menggunakan pinset lebih mudah, setelah itu baru dimasukkan kedalam dua kandang berukuran 40cm x 40cm yang sudah disediakan. Kemudian dua kandang tersebut diletakkan dalam ruangan dengan suhu berkisar antara 23°C-26°C selama 24 jam (Truman, 2006). Setelah itu diberi 50 lalat *Chrysomya megacephala* ke masing-masing kandang.

## **Penghitungan**

Tikus yang mati, diamati sehari dua kali pengamatan yaitu pukul 07.00-08.00 dan pukul 15.00-16.00 dengan loop, dilakukan setiap harinya pengamatan metamorfosis lalat sampai menghasilkan larva stadium satu dan sampai menjadi lalat dewasa. Diambil 10 larva per stadiumnya dari kedua bangkai tikus yang mati dengan cara berbeda untuk mengamati setiap metamorfosisnya. Hasil pengamatan dicatat kedalam tabel untuk melihat perbandingan, dibuat grafik untuk penyampaian laporan, dan dicatat waktu pengambilannya.

### **4.4.4 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data Hasil**

Data yang diperoleh dimasukkan dalam tabel dan di analisis kemaknaannya menggunakan *Independent Sample T-test* dan *Uji Mann Whitney*. Semua analisis statistik menggunakan program IBM SPSS Statistics 13.0 dari Windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p=0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). (Yamin 2009).