

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan (*true experimental-posttest only with control group design*), yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan larvasida abate dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* dalam dua lingkungan yang berbeda, yaitu di dalam dan di luar ruangan.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Agustus-September 2014.

4.3 Sampel dan Estimasi Besar Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* yang didapat dari hasil pengembangbiakan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, sedangkan larvasida abate diperoleh dari apotek.

Adapun perlakuan yang diberikan adalah membagi sampel dalam kelompok perlakuan dimana :

Perlakuan I : Mengisi kontainer dengan 0,5 liter air tanpa diberi larvasida abate kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan. (kontrol)

Perlakuan II : Mengisi kontainer dengan 0,5 liter air tanpa diberi larvasida abate kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan. (kontrol)

Perlakuan III : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 15 menit.

Perlakuan IV : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 30 menit.

Perlakuan V : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 45 menit.

Perlakuan VI : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 60 menit.

Perlakuan VII : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan)

dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 75 menit.

Perlakuan VIII : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 90 menit.

Perlakuan IX : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 105 menit.

Perlakuan X : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 120 menit.

Perlakuan XI : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di dalam ruangan selama 135 menit.

Perlakuan XII : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan)

dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 15 menit.

Perlakuan XIII : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 30 menit.

Perlakuan XIV : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 45 menit.

Perlakuan XV : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 60 menit.

Perlakuan XVI : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 75 menit.

Perlakuan XVII : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan)

dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 90 menit.

Perlakuan XVIII: Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 105 menit.

Perlakuan XIX : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 120 menit.

Perlakuan XX : Mengisi 2 buah kontainer dengan 0,5 liter air dan diberi larvasida abate 50 mg. Kontainer pertama (tidak didiamkan) dan kontainer kedua (setelah didiamkan 7 hari) kemudian dimasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* dan diletakkan di luar ruangan selama 135 menit.

Estimasi besar pengulangan dilakukan berdasarkan penghitungan rumus :

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

$$(20 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$19(r - 1) \geq 15$$

$$19r - 19 \geq 15$$

$$r \geq 1,78 \approx 2$$

Keterangan: t = banyak kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

Jadi berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini minimal adalah dua kali.

4.4 Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri dari:

- a. Variabel bebas : Letak kontainer di dalam/luar ruangan (skala nominal)
- b. Variabel tergantung : Waktu kematian larva *Aedes aegypti* (skala numerik)

4.5 Bahan dan Alat /Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat penelitian

Terdapat dua kelompok alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini. Kelompok pertama adalah alat yang digunakan untuk memperoleh larva *Aedes aegypti*, dan kelompok kedua adalah alat yang digunakan untuk uji efektivitas penggunaan larvasida abate dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* dalam dua lingkungan yang berbeda, yaitu di dalam dan di luar ruangan.

1. Alat untuk Memperoleh Larva Nyamuk *Aedes aegypti*.

- 2 buah baskom, dengan diameter 30 cm, tinggi 25 cm (diisi air jernih dari Laboratorium Parasitologi ± 15 liter)
- Pipet berujung tumpul
- Tabung reaksi & tutup

2. Alat untuk Uji Efektifitas Larvasida Abate terhadap Larva *Aedes aegypti* di dalam maupun di luar ruangan.

- 20 buah *beaker glass*
- Pipet berujung tumpul

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam dua kelompok yaitu bahan yang digunakan untuk memperoleh larva nyamuk *Aedes aegypti* dan bahan yang digunakan untuk uji efektivitas penggunaan larvasida abate dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* dalam dua lingkungan yang berbeda, yaitu di dalam dan di luar ruangan.

1. **Bahan untuk Memperoleh Larva Nyamuk *Aedes aegypti***
 - Air Kran/PDAM
2. **Bahan untuk Uji Efektifitas Larvasida Abate terhadap Larva *Aedes aegypti* di dalam maupun di luar ruangan.**
 - Abate 4 gram
 - Larva *Aedes aegypti*
 - Air Kran/PDAM

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Persiapan Penelitian

4.6.1.1 Penangkapan Larva *Aedes aegypti*

- Dua buah baskom berwarna gelap (hitam) dan memiliki diameter yang sama (30cm) diisi air kran (sesuaikan dengan *breeding place Aedes aegypti*) dengan volume sama (tinggi air ≤ 10 cm dari dasar baskom, ± 5 liter).
- Tiap baskom yang telah diisi air diletakkan di tempat yang gelap. Kemudian dilihat hasilnya setiap hari apakah telah didapatkan larva pada tiap baskom.

- Bila terdapat larva pada tiap baskom, larva diambil dengan menggunakan pipet yang ujungnya tumpul yang diameternya lebar kemudian dipisahkan ke dalam wadah yang lain.
- Larva yang didapat dipisahkan menurut ciri khasnya.
- Hasil identifikasi yaitu larva nyamuk *Aedes aegypti*.

4.6.2 Pelaksanaan Penelitian

4.6.2.1 Pembuatan Larutan Abate

- Stok larutan uji disiapkan dengan cara 50 mg abate dilarutkan ke dalam air dengan volume 0,5 liter. Konsentrasi yang didapat adalah 100 ppm. Kemudian, langkah di atas tersebut diulang pada 17 *beaker glass* yang lain, sehingga terdapat 18 *beaker glass* yang berisi air sebanyak 0,5 liter yang telah dilarutkan dengan abate 50 mg.
- Perlakuan kontrol yang diberikan ada 2 macam:
 - Kontrol I : pemberian air sejumlah 0,5 liter tanpa diberi larvasida abate pada larva coba dan diletakkan di dalam ruangan.
 - Kontrol II : pemberian air sejumlah 0,5 liter tanpa diberi larvasida abate pada larva coba dan diletakkan di luar ruangan.
- 20 *beaker glass* tersebut diberi label berdasarkan tempat dan waktu pengamatan yang akan dilakukan dan masing-masing diisi dengan larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 20.
- Pengamatan terhadap perlakuan dilakukan sesuai tempat yang ditentukan :
 - *Beaker glass* I : kontrol di dalam ruangan.
 - *Beaker glass* II : kontrol di luar ruangan.
 - *Beaker glass* III - XI : pengamatan di dalam ruangan.

- *Beaker glass* XII - XX : pengamatan di luar ruangan.
- Dari pengamatan tersebut, dihitung dan dicatat persentase larva yang mati pada pengamatan sesuai waktu yang ditentukan.
- Stok larutan uji disiapkan lagi dengan cara 50 mg abate dilarutkan ke dalam air dengan volume 0,5 liter. Konsentrasi yang didapat adalah 100 ppm. Kemudian, langkah di atas tersebut diulang pada 17 *beaker glass* yang lain, sehingga terdapat 18 *beaker glass* yang berisi air sebanyak 0,5 liter yang telah dilarutkan dengan abate 50 mg. Kemudian, 18 gelas tersebut dibiarkan selama tujuh hari.
- Setelah dibiarkan selama tujuh hari, 20 *beaker glass* tersebut diberi label berdasarkan tempat dan waktu pengamatan yang akan dilakukan dan masing-masing diisi dengan larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 20.
- Pengamatan terhadap perlakuan dilakukan sesuai tempat yang ditentukan :
 - *Beaker glass* I : kontrol di dalam ruangan.
 - *Beaker glass* II : kontrol di luar ruangan.
 - *Beaker glass* III - XI : pengamatan di dalam ruangan.
 - *Beaker glass* XII - XX : pengamatan di luar ruangan.
- Dari pengamatan tersebut, dihitung dan dicatat persentase larva yang mati pada pengamatan sesuai waktu yang ditentukan.
- Pengulangan dilakukan sebanyak dua kali untuk masing-masing perlakuan.

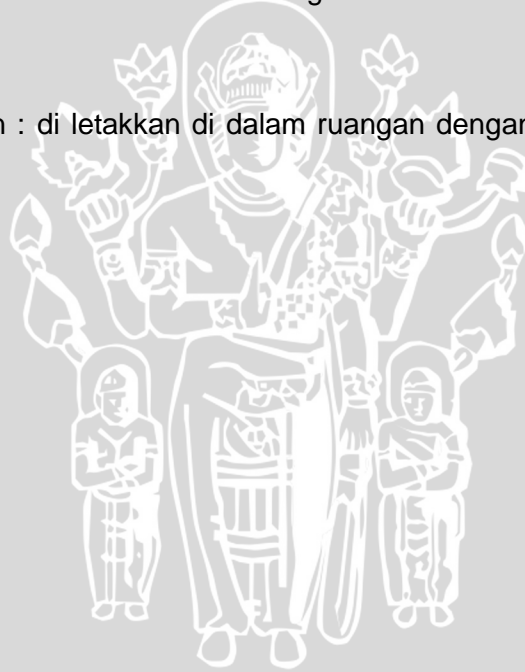
4.7 Definisi Operasional

1. *True experimental-post test only control group design*, merupakan rancangan penelitian randomisasi pada sampel sehingga kelompok kontrol

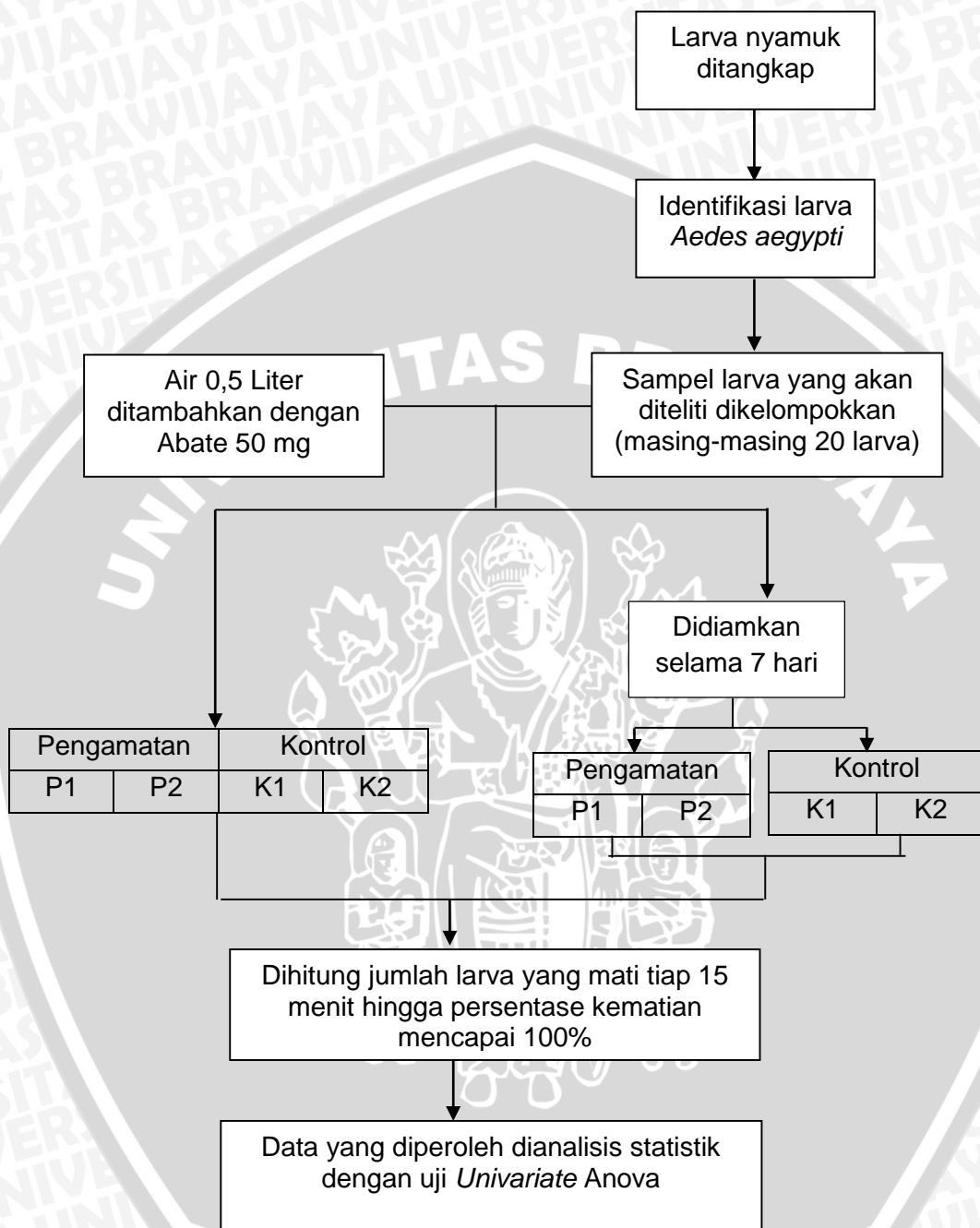
dan kelompok eksperimen dianggap sama sebelum diberi perlakuan.

Setelah perlakuan, diadakan pengukuran terhadap efek perlakuan tersebut.

2. Bubuk abate : Abate berbentuk butiran yang terdapat di apotek.
3. Larva *Aedes aegypti* stadium 3 dan 4 : Larva yang memiliki ukuran terbesar dan mempunyai bentuk *siphon* yang jelas diketahui dengan cara membandingkan ukuran semua larva *Aedes aegypti* di tempat pembiakan.
4. Larva mati : bila dilakukan sentuhan/gangguan bagian *siphon* atau bagian tubuh lainnya dari larva, tidak ada pergerakan.
5. Luar ruangan : di letakkan di luar ruangan dimana terkena sinar matahari langsung.
6. Dalam ruangan : di letakkan di dalam ruangan dengan suhu kamar (20-25°).



4.8 Diagram Alur Kerja Penelitian



Keterangan :

- K1 : Kontrol tanpa diberi abate dan diletakkan di dalam ruangan.
- K2 : Kontrol tanpa diberi abate dan diletakkan di luar ruangan.
- P1 : Pengamatan dilakukan di dalam ruangan.
- P2 : Pengamatan dilakukan di luar ruangan.

4.9 Pengumpulan Data

Data yang diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut tempat dan waktu pengamatan dan dimasukkan data jumlah larva yang mati, pada masing-masing perlakuan dan pengulangan yang dilakukan. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik.

4.10 Analisis Data

Data hasil yang telah diperoleh, dikelompokkan dan dimasukkan dalam tabel dan diuji kemaknaannya dengan menggunakan Anova (*Analysis of varian*) untuk 2 faktor (faktor perlakuan dan faktor waktu). Dengan hipotesis statistik penelitian adalah :

H_0 : Rata-rata persentase kematian larva *Aedes aegypti* pada tiap perlakuan memiliki perbedaan yang tidak nyata.

H_1 : Rata-rata persentase kematian larva *Aedes aegypti* pada tiap perlakuan memiliki perbedaan yang nyata.

Apabila didapatkan perbedaan pada tiap kelompok maka dilanjutkan dengan *post hoc test Duncan* untuk mengetahui faktor mana saja yang berbeda. Variabel yang ingin diprediksi adalah variabel tergantung yaitu jumlah larva yang mati pada tiap 15 menitnya, sedang yang diukur adalah variabel bebas yaitu tempat pengamatan.