

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk membandingkan perbedaan media tumbuh berupa bangkai tikus dengan kandungan Ephedrine dan bangkai tikus tanpa kandungan Ephedrine terhadap panjang, berat, dan durasi pertumbuhan larva lalat *Musca domestica*

4.2 Populasi dan Sampel**4.2.1 Populasi**

Populasi yang digunakan adalah larva lalat *Musca domestica* yang tumbuh pada media dengan dan tanpa kandungan Ephedrine.

4.2.2 Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 10 ekor larva *Musca domestica* terbesar dari media tumbuh dengan dan tanpa kandungan Ephedrine untuk diukur panjangnya, ditimbang beratnya, serta dihitung durasi pertumbuhannya.

4.2.3 Cara Pemilihan Sampel

Lalat *Musca domestica* dibiakkan media tumbuh berupa bangkai tikus dengan dan tanpa kandungan Ephedrine. Kriteria pemilihan sampel adalah 10 larva terbesar pada kelompok larva di kedua media tumbuh.

4.2.4 Pengulangan Sampel

Pada penelitian ini, ada dua perlakuan:

Kontrol : lalat genus *Musca domestica* dibiakkan di media bangkai tikus tanpa Kandungan Ephedrine.

Perlakuan : lalat genus *Musca domestica* dibiakkan di bangkai tikus dengan kandungan Ephedrine.

Pengulangan yang dilakukan pada setiap perlakuan adalah dilakukan pengambilan larva sebanyak 10 buah. Semua perlakuan diletakkan pada suhu kamar dengan kelembaban dan intensitas cahaya yang sama.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah media tumbuh dengan dan tanpa kandungan Ephedrine.

4.3.2 Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah pertumbuhan larva lalat *Musca domestica* pada media dengan dan tanpa kandungan Ephedrine.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Agustus 2014

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Sarung tangan karet
- Kandang lalat
- Termometer ruangan
- Penggaris
- Pinset untuk mengambil larva
- Mikroskop cahaya
- Timbangan analitik
- Alat pemotong bagian posterior larva (silet)
- Kaca benda
- Kompor listrik
-

4.5.2 Bahan-Bahan Penelitian

- Dua ekor tikus *Rattus norvegicus strain wistar*
- 100 ekor lalat *Musca sp.*
- Air panas untuk membunuh larva

- Kapas
- Ephedrine dosis toksik

4.6 Dosis Toksik Ephedrine

Data toksisitas Ephedrine:

Rat (oral) Male : LD50 = 600 mg/kgBb

(MG Soni et al, 2004)

4.7 Definisi Operasional

1. Lalat *Musca domestica*. Disebut juga lalat rumah, dengan ciri-ciri

- Kepala berbentuk oval, antenna tipe *Cyclopharcous* bagian mulut disebut proboscis tipe *sponging*.
 - Bagian dorsal thorax terdapat 4 garis longitudinal berwarna hitam, mempunyai 3 pasang kaki, *wing vein* ke-4 membelok mendekati *wing vein* ke-3
 - Abdomen berwarna abu-abu dengan garis-garis atau bercak orange
- Lalat untuk penelitian ini ditangkap di lingkungan Universitas Brawijaya

2. Media tumbuh yang dipakai adalah berupa bangkai tikus *Rattus norvegicus strain wistar* yang mempunyai berat rata-rata 200 gram.

- Media tumbuh dengan kandungan Ephedrine adalah bangkai tikus *Rattus norvegicus strain wistar* yang diberi perlakuan 120 mg Ephedrine dengan cara disonde (per oral), setelah timbul gejala toksisitas seperti hiperaktivitas, hipertermia, dan midriasis yang

menandakan kadar puncak telah tercapai dalam darah lalu dilakukan *cervical dislocation*

- Media tumbuh tanpa kandungan Ephedrine adalah bangkai tikus *Rattus norvegicus strain wistar* yang mati akibat *cervical dislocation*.

3. Larva lalat

- Diukur panjangnya dengan menggunakan penggaris
- Ditimbang beratnya dengan menggunakan timbangan
- Larva lalat *Musca domestica*. berwarna putih, bentuk lebih mirip kerucut daripada sosis, diidentifikasi dari pemeriksaan mikroskopis yaitu bentuk spirakel posterior khas yang berkelok-kelok.

4.8 Prosedur penelitian

Prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut: Lima puluh ekor lalat *Musca domestica* yang ditangkap dari lingkungan Universitas Brawijaya, dimasukkan ke dalam dua buah kandang yang telah disediakan. Satu kandang diisi dengan bangkai tikus dengan paparan Ephedrine dosis toksik dengan cara disonde dan dimatikan dengan *cervical dislocation* setelah timbul gejala toksisitas seperti hiperaktivitas, hipertermia, dan midriasis yang menandakan kadar puncak telah tercapai dalam darah. Satu kandang yang lain diisi dengan bangkai tikus yang mati akibat dislokasi cervical. Pada penelitian ini, berat rata-rata tikus sebesar 200 mg. Bila LD50 Ephedrine untuk tikus adalah 600 mg/kg (MG Soni et al, 2004), maka Ephedrine yang dibutuhkan adalah sebesar $(200\text{mg} / 1000\text{ mg}) \times 600\text{ mg} = 120\text{ mg}$. Kemudian kedua bangkai tikus tersebut dibuat irisan pada garis tengah tubuh bagian ventral

sepanjang leher sampai dekat anus sampai tampak organ dalam tubuh tikus. Kemudian 2 kandang tersebut diletakkan dalam ruangan dimana suhunya berkisar antara 25°C-28°C.

4.9 Prosedur Pengambilan Sampel Larva

1. Dilakukan pemeriksaan setiap hari sekitar pukul 05.00-07.00 dan 17.00-18.00 WIB. Diambil 10 larva dengan ukuran terbesar, dimasukkan ke air panas sampai mati, diukur panjangnya, berat larva dan dicatat waktu pengambilannya.
2. Pertumbuhan larva dimulai saat 6-12 jam telur menetas menjadi larva stadium 1. Sehari kemudian menjadi larva stadium 2, satu minggu menjadi larva stadium 3. Larva stadium 3 lalu menjadi pupa, 4-5 hari kemudian menjadi lalat dewasa.
3. Pemeriksaan stadium larva dilakukan dengan memeriksa spirakel posterior yang dilaksanakan saat telur berubah menjadi larva larva, yaitu larva stadium 1.
 1. Dengan pemeriksaan setiap hari, maka akan ditemukan fase metamorfosis larva, dengan data kuantitatif berupa panjang larva, berat larva mulai dari larva stadium 1 dan durasi masing-masing stadium.

Cara untuk mengamati dan menentukan stadium larva:

Larva dimasukkan ke dalam air panas selama 20 detik

Bagian posterior larva
diiris tipis

Bagian posterior larva
dibuat sediaan

Diamati spirakel posterior di
bawah mikroskop untuk
mengetahui stadium larva

4.10 Pengolahan dan Analisis Data

Data-data hasil yang diperoleh, dikelompokkan dan dimasukkan dalam tabel dan diuji kemaknaannya dengan menggunakan *Independent Sample Ttest*. Semua perangkat analisis statistik menggunakan fasilitas SPSS 13.0 dari *Windows*.

4.11 Alur Kerja Penelitian

