

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratorium (*Experimental laboratories*), yaitu penelitian dengan memberikan perlakuan kepada subjek penelitiannya dan observasi dilakukan untuk membuktikan adanya efek dari perlakuan yang dilakukan di laboratorium dengan rancangan *post test only group control*.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Juli

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini melibatkan tiga tahap:

- a. Tahap pertama, ovitrap dipasang di beberapa lokasi di sekitar rumah, misalnya di dekat saluran air (*drainase*).
- b. Tahap kedua, kolonisasi larva *Aedes Sp* yang dihasilkan dari pemasangan ovitrap.
- c. Hasil pemasangan ovitrap yang diujikan pada larva *Aedes Sp* dengan ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) merupakan penelitian tahap ketiga. Penelitian dilakukan di laboratorium Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kendari.

C. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini ialah:

1. Larva *Aedes sp*

Larva *Aedes sp* yang digunakan adalah 25 larva stadium III dari penetasan telur yang diperoleh dengan menggunakan ovitrap.

2. Daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*)

Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) diperoleh sebanyak 500 gram diolah menjadi ekstrak dalam konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% atau 50%.

Alat

- a. Cawan Petri
Digunakan untuk menampung ekstrak daun Sintrong yang akan diuji larva *Aedes sp.*
- b. Wadah plastik
Digunakan sebagai wadah uji dalam penelitian ini.
- c. Gelas ukur
Digunakan untuk mengukur jumlah air dan etanol 70% yang digunakan untuk melarutkan ekstrak daun Sintrong.
- d. Pipet ukur
Digunakan untuk mengambil larutan ekstrak daun Sintrong.
- e. Pipet tetes
Digunakan untuk mengambil larva *Aedes sp* yang mati dari tempat pengujian.
- f. Lembar pengamatan
Digunakan sebagai lembar untuk mencatat hasil pengujian.
- g. Hot Plate
- h. Blender
- i. Corong
- j. Timbangan
- k. Tabung reaksi
- l. Labu erlenmeyer

1) Bahan

- a. Larva *Aedes sp.*
Hewan uji dalam penelitian ini adalah larva *Aedes sp.* Larva ini dipelihara dengan memasang perangkap ovit di lingkungan tempat tinggal.
- b. Ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*)
Dalam penelitian ini, ekstrak daun Sintrong digunakan sebagai pengendali vektor alami sebagai bahan uji.

c. Aquades

Digunakan untuk mengencerkan ekstrak daun Sintrong hingga mencapai konsentrasi yang tinggi.

d. Air keran

Berfungsi sebagai media pertumbuhan larva dan pencucian daun Sintrong yang baru dipetik.

e. Etanol 70%

digunakan untuk mengencerkan ekstrak daun Sintrong hingga menjadi larutan.

2) Prosedur kerja

1) **Pra analitik**

a. Pemasangan ovitrap

1. Kegiatan pengambilan telur nyamuk *Aedes sp* dengan menggunakan alat penangkap telur (ovitrap).
2. Setiap lokasi yang telah ditandai akan dipasang 2 ovitrap.
3. Ovitrap akan dipasang di luar rumah pada lokasi-lokasi yang dianggap memungkinkan sebagai tempat bertelurnya nyamuk *Aedes sp*.
4. Ovitrap akan dipasang di luar rumah pada lokasi-lokasi yang tidak terkena sinar matahari langsung maupun air hujan.
5. Selama penelitian berlangsung, pemasangan ovitrap hanya akan dilakukan satu kali di setiap lokasi penelitian.
6. Ovitrap selanjutnya akan dibawa ke Laboratorium Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari

b. Kolonisasi Larva *Aedes Sp*.

1. Perangkap telur berisi telur nyamuk *Aedes Sp*. ditaruh dalam wadah plastik.
2. Diberi label sesuai lokasi ditemukannya telur dan dibiarkan selama 1-2 hari hingga menetas menjadi larva.

3. Pakan hati ayam diperlukan sebagai makanan larva agar dapat bertahan hidup hingga menjadi pupa.
- c. Pembuatan konsentrasi larutan.
1. Daun sintrong dicuci bersih dengan air mengalir untuk membuang kotoran yang mungkin masih menempel.
 2. Daun sintrong kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 3 jam.
 3. Setelah kering, haluskan dengan blender hingga menjadi serbuk halus.
 4. Timbang daun sintrong sebanyak 500 g.
 5. Setelah daun sintrong dihaluskan dan ditimbang, daun sintrong dicampur dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5.
 6. Larutan daun sintrong dan etanol direndam selama tiga sampai lima hari sambil diaduk sesekali.
 7. Larutan disaring untuk memisahkan endapan dari larutan menggunakan kertas saring dan dibuat ekstrak.
 8. Filtrat dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditaruh di penangas air dan dipanaskan hingga volume ekstrak berkurang dan mengental.
 9. Ekstrak daun sintrong diperoleh dengan pemanasan hingga mencapai konsentrasi 100%.
 10. Untuk memperoleh konsentrasi yang diinginkan, dapat digunakan rumus sebagai berikut:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Keterangan:

V1 : Volume larutan stok

V2 : Volume larutan perlakuan

MI : Konsentrasi larutan stok

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

Tabel 4.1 Jumlah Ekstrak Daun Sintrong Yang Diinginkan

M1	V2	M2	$V1=V2.M2M1$
100%	10	10%	1 ml
100%	10	20%	2 ml
100%	10	30%	3 ml
100%	10	40%	4 ml
100%	10	50%	5 ml
Total			15 ml

2) Analitik

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji kepekaan. Setelah larva *Aedes Sp* diperoleh, larva dipisahkan dan dilakukan pengujian dengan pemberian ekstrak daun Sintrong pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% selama 24 jam. Hasil yang diperoleh kemudian dievaluasi dalam analisis probit untuk mengetahui nilai LC50 dan LC90. Adapun prosedur untuk mendapatkan nilai LC50 dan LC90 adalah:

1. Nilai ditentukan menggunakan perangkat lunak SPSS pada komputer dengan regresi probit.
2. Pada tampilan variabel, masukkan informasi tentang waktu paparan, jumlah sampel atau larva uji (*exposure*) dan jumlah rata-rata kematian.
3. Data yang dimasukkan dievaluasi dengan menerapkan regresi probit.
4. Pada kolom "Analisis Probit", masukkan data berupa waktu pada kolom "*Response Frequency*", *exposure* pada kolom "*Total Observed*" dan total mortalitas pada kolom "*Covariate*". Jika Anda memilih "*Transform dengan None*", dan model probit dipilih.
5. Tekan "OK"
6. Hasil regresi probit, yaitu nilai LC50 atau LC90, ditampilkan.

3) Pasca Analitik

- a. Mengumpulkan hasil penelitian
- b. Menyimpan hasil penelitian
- c. Menyajikan hasil penelitian

D. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer merupakan informasi yang diperoleh dari penelitian langsung di laboratorium Parasitologi Departemen Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kendari.

2. Data Sekunder

Data sekunder merupakan data yang diperoleh atau dikumpulkan peneliti dari sumber yang sudah ada yaitu survei-survei terdahulu dan pengumpulan data dari Dinas Kesehatan Kota Kendari.

3. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian diolah melalui berbagai proses.

a. Pemeriksaan data (editing) Tujuannya adalah untuk meninjau kembali data yang telah terkumpul.

b. Tujuan pengkodean data (coding) adalah untuk mempermudah analisis data dengan memberikan kode atau atribut.

c. Entri data (input) Memasukkan data yang telah tersedia untuk diolah di komputer.

d. Tabulasi (tabulation) Tabulasi merupakan kelanjutan dari langkah pengkodean untuk mengelompokkan data ke dalam kelompok-kelompok data tertentu sesuai dengan karakteristiknya sesuai dengan tujuan penelitian.

4. Analisis data

1. Rumus perhitungan rata-rata angka kematian larva *Aedes sp*:

$$\times = \frac{\sum \text{jumlah kematian larva}}{\text{Pengulangan Perlakuan}} \times 100\%$$

2. Analisis probit

Untuk menghitung persentase tingkat kematian larva *Aedes sp*, digunakan uji probit dalam penelitian ini. Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan analisis probit. Analisis probit digunakan untuk menentukan konsentrasi letal yang menyebabkan kematian pada larva *Aedes sp*. Untuk menentukan perkiraan dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% (LC50) atau 90% (LC90) pada larva *Aedes sp*, analisis probit digunakan sebagai metode statistik untuk menguji hubungan dosis-respons.

E. Penyajian Data

Data yang tersedia disajikan dalam tabel distribusi frekuensi dan kemudian dinyatakan dalam kalimat sehingga mudah dipahami dan memenuhi tujuan yang diinginkan.