

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni di laboratorium dengan memberikan suatu intervensi pada sampel yang diuji. Disain *Cohort* digunakan dalam penelitian ini karena peneliti melakukan pengamatan atau pengukuran berkelanjutan mulai 12 jam pertama hingga penelitian berakhir.

B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah larva *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Pengambilan sampel (larva) dari populasi dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

1. Kriteria inklusi :

- a. digunakan larva instar III (mudah diidentifikasi daripada instar I dan II serta tidak cepat berubah menjadi pupa)
- b. umur larva antara 4-5 hari
- c. jenis kelamin larva betina dan jantan
- d. keadaan larva baik (sehat dan aktif)

2. Kriteria eksklusi

- a. larva pasif
- b. larva terlihat tidak sehat

Terdapat 6 sampel (pada konsentrasi 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, dan 0,25%) ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dan 2 kelompok kontrol (pada kontrol positif dan negatif). Pada setiap sampel dilakukan replikasi dua kali. Dalam setiap sampel terdiri dari 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III. Pengambilan jumlah larva pada setiap sampel didapatkan dari mean (rata-rata) sampel penelitian-penelitian terdahulu tentang larvasida.

C. Alat dan Bahan

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan fasilitas dari Laboratorium Parasitologi fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian adalah gelas plastik ukuran 200 ml, gelas ukur, pipet, tabung reaksi, sendok, counter, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dalam berbagai konsentrasi (2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, dan 0,25%), air ledeng, Etanol 96%, Aseton 1%, bubuk ABATE.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan selama tiga hingga empat minggu pada bulan September 2007. dengan perincian satu minggu untuk ekstraksi dan 2-3 minggu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

E. Identifikasi Variabel Penelitian

Pada Penelitian ini digunakan variabel-variabel sebagai berikut :

1. Variabel bebas : ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) pada berbagai konsentrasi (2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, dan 0,25%)
2. Variabel tergantung : prosentase kumulatif kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.
3. Variabel pengganggu terkendali : stadium larva nyamuk *Aedes aegypti*.
4. Variabel pengganggu tidak terkendali : variasi biologis dan variasi individual larva nyamuk *Aedes aegypti*.

F. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah

1. Ekstrak buah Pare (*Momordica carantia*) adalah bahan kental, pekat, gelap yang dihasilkan dari proses ekstraksi daging buah Pare (*Momordica carantia*) dengan pelarut adalah etanol 96%, yang selanjutnya ditetapkan sebagai konsentrasi 100%. Pengenceran dari konsentrasi dasar (100%) dilakukan dengan penambahan air ledeng dan Aseton 1% sehingga didapat serangkaian deret konsentrasi 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, dan 0,25% digunakan dalam

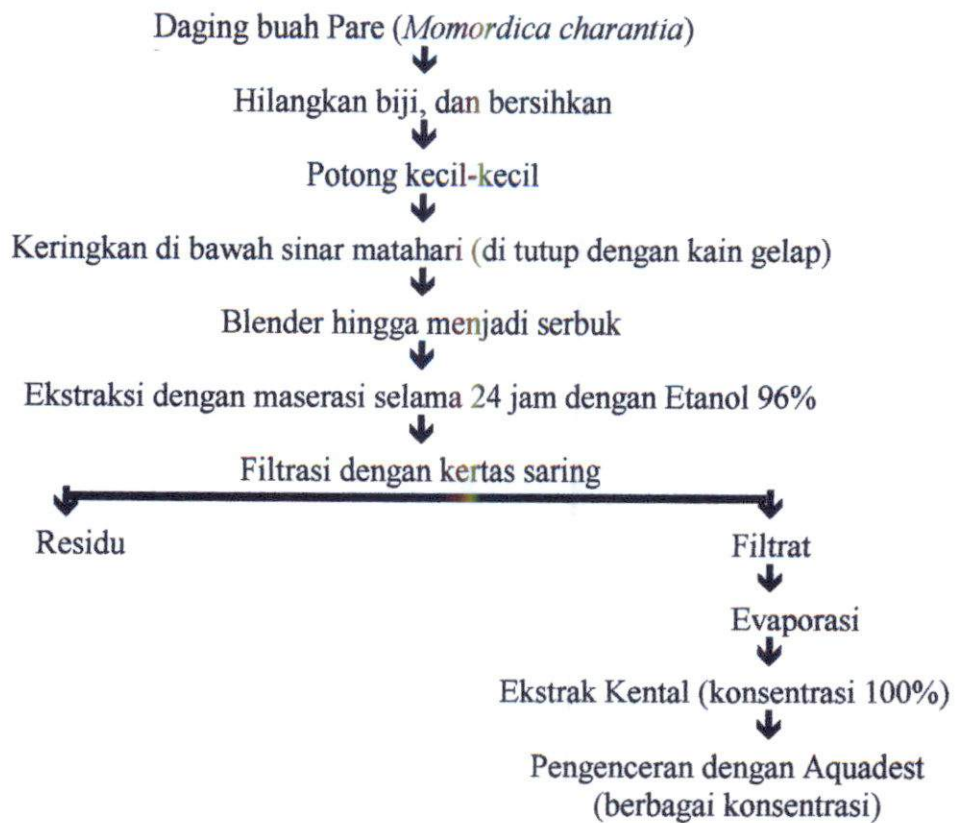
2. Stadium larva adalah larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* yang memiliki usia antara 4-5 hari.
3. Daya larvasida ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) adalah daya meracuni atau membunuh yang dihasilkan oleh ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Ditentukan dalam LC (*Lethal concentration*)₅₀ dan LC₉₀.
4. LC (*Lethal concentration*)₅₀ adalah dalam konsentrasi tertentu ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dapat membunuh populasi dalam sempel sebanyak 50%.
5. LC (*Lethal concentration*)₉₀ adalah dalam konsentrasi tertentu ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dapat membunuh populasi dalam semple sebanyak 90%

G. Prosedur Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

Semua alat yang dipergunakan dalam penelitian disiapkan dalam satu meja untuk mempermudah jalannya penelitian. Sebelumnya alat-alat dibersihkan

Pembuatan ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dikerjakan di Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Skematis pembuatan ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) sebagai berikut :



Ekstrak kental (100%) dilakukan pengenceran untuk mendapatkan berbagai konsentrasi yang dibutuhkan (2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, dan 0,25%). Rumus yang digunakan untuk pengenceran adalah $V_1 M_1 = V_2 M_2$.

2. Uji efek larvasida

Disiapkan 14 seri gelas plastik sebagai media larva (6 sempel dan 2 kontrol dilakukan replikasi 2 kali). Dua belas gelas plastik pertama sebagai kelompok uji dengan diberikan ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) dengan konsentrasi

2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, masing-masing 2 gelas ukur. Gelas plastik berikutnya, digunakan sebagai kontrol positif dengan bubuk Abate yang mengandung bahan aktif dari golongan *organophosphor* (*temephos*) dengan takaran 1 gram Abate untuk 10 L air. Gelas plastik terakhir sebagai kelompok kontrol negatif, dengan diberikan pelarut ekstrak (aseton 1%).

Gelas ukur 500 ml pada kelompok uji, masing-masing diisi air ledeng 75 ml dan ditambahkan ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) berbagai konsentrasi kemudian dihomogenkan. Larva *Aedes aegypti* dimasukkan ke gelas plastik pada masing-masing konsentrasi sebanyak 25 ml sehingga volume keseluruhan tepat 100 ml. Pada kelompok kontrol positif, gelas plastik dimasukkan larva dan air ledeng sebanyak 100 ml kemudian ditambahkan bubuk Abate. Larva *Aedes aegypti* diberikan makan ikan sebelum penelitian dilakukan, namun saat penelitian larva tidak diberikan makan agar larva uji menjadi lapar sehingga dapat menelan bahan uji (ekstrak buah Pare) seperti yang diharapkan.

H. Pengukuran dan Analisa Data

Mortalitas larva dihitung 12 jam, 24 jam, dan 36 jam setelah perlakuan, kemudian dibuat prosentase kumulatifnya. Prosentase kumulatif dihitung dengan cara membagi jumlah kumulatif mortalitas larva pada saat diperiksa dengan dengan jumlah larva sebelum diperiksa dikalikan 100%. Prosentase kumulatif larva dikoreksi dengan Formula Abbot apabila angka kematian pada kelompok

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

Keterangan : A = Prosentase mortalitas yang dikoreksi

B = Prosentase mortalitas kelompok uji

C = Prosentase mortalitas kelompok kontrol

Daya bunuh ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*) diukur dengan menghitung LC₅₀ dan LC₉₀ yang selanjutnya akan dianalisa dengan menggunakan analisis probit. Analisis probit biasa dipakai dalam pengujian biologis untuk mengetahui respon subjek yang diteliti oleh adanya stimuli³⁴. Analisis dilakukan menggunakan paket program dari SPSS 15.0 Window tahun 2006.

Validitas dapat ditingkatkan dengan melakukan penyamaan jumlah, ciri subjek, dan kondisi sampel penelitian (*matching*), randomisasi dalam pengelompokan sampel penelitian, dan dengan pengoreksian mortalitas larva dengan Formula Abbot apabila pada kelompok kontrol terdapat kematian sebesar 5-9%.

Reliabilitas penelitian dapat ditingkatkan dengan replikasi dua kali pada setiap