

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dimana akan dilihat LC<sub>50</sub> dan LC<sub>99</sub> 24 jam temefos terhadap larva *Ae.aegypti* dari daerah endemis, sporadis dan daerah bebas DBD.

### 3.2 Lokasi Penelitian

Sampel larva *Ae.aegypti* diperoleh dari Kelurahan Marpoyan Damai Kecamatan Tangkerang Barat sebagai daerah endemis, Kelurahan Meranti Pandak Kecamatan Rumbai Pesisir sebagai daerah sporadis dan Kelurahan Tebing Tinggi Okura Kecamatan Rumbai Pesisir sebagai daerah bebas DBD.

Uji kerentanan larva *Ae.aegypti* terhadap temefos dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Unri.

### 3.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan November 2009 dengan rincian sebagai berikut:

Kegiatan	Juli	Agustus	Sept	Okt	Nov
Survey lokasi					
Pembuatan proposal dan studi pustaka					
Koleksi larva					
Percobaan					
Penyusunan hasil penelitian					

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh larva *Ae.aegypti* di Pekanbaru. Sedangkan Sampel pada penelitian ini adalah larva *Ae. aegypti* yang diperoleh dari daerah endemis yaitu

Kelurahan Marpoyan Damai, daerah sporadis yaitu kelurahan Meranti Pandak, dan Kelurahan tebing Tinggi Okura sebagai daerah bebas DBD.

Penentuan lokasi pengambilan larva adalah sebagai berikut : 58 kelurahan yang berada di Kota Pekanbaru, yang mencakup kelurahan endemis, sporadis maupun bebas DBD. Sampel diperoleh dengan menggunakan teknik *multistage sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dilakukan secara bertahap, dengan menggabungkan dua atau lebih rancangan sampel sekaligus.

Lima puluh delapan kelurahan yang ada di Pekanbaru dikelompokkan menjadi tiga menurut jumlah kasus DBD yang ada di tiap-tiap kelurahan tersebut, yaitu kelurahan endemis DBD, sporadis DBD, dan bebas DBD. Setiap tiga kelompok tersebut, diundi masing-masing satu kelurahan menggunakan teknik *simple random sampling*, dimana tiap kelurahan dari tiga kelompok yang ada mempunyai kesempatan yang sama untuk terpilih. Tiga kelurahan yang terpilih adalah Kelurahan Tangkerang Barat sebagai perwakilan daerah endemis DBD, Kelurahan Meranti Pandak sebagai perwakilan daerah sporadis DBD dan Kelurahan Tebing Tinggi Okura sebagai perwakilan daerah bebas DBD.

Ke tiga kelurahan yang telah terpilih, masing-masing memiliki 12 rukun warga (RW) pada Kelurahan Tangkerang Barat, 13 RW pada Kelurahan Meranti Pandak, dan 7 RW pada Kelurahan Tebing Tinggi Okura. Pada tahap selanjutnya digunakan teknik *quota sampling*, yaitu menetapkan jumlah tertentu untuk setiap kelompok lalu memilih sampel yang ada sampai jumlah itu terpenuhi. Jumlah yang diinginkan adalah 3 RW untuk masing-masing kelurahan. Tiga RW yang akan dijadikan sampel, dipilih dengan pengundian secara random dengan probabilitas yang sama sesuai jumlah RW yang ada di masing-masing kelurahan. Hasil pengundian pada Kelurahan Tangkerang Barat terpilih RW 8, RW 1 dan RW 4, pada Kelurahan Meranti Pandak terpilih RW 3, RW 7 dan RW 6, sedangkan pada Kelurahan Tebing Tinggi Okura terpilih RW 3, RW 1 dan RW 2. Dengan demikian, telah didapatkan 9 RW dari ketiga kelurahan yang akan diteliti.

Teknik *purposive sampling* digunakan pada tahap selanjutnya untuk menentukan rumah yang akan dijadikan sampel. Dimana pada teknik *purposive sampling* ini, pemilihan sampel dilakukan berdasarkan kriteria dan pertimbangan tertentu. Sampel yang diinginkan adalah 30 rumah dari masing-masing kelurahan. Alasan dipilihnya sampel 30 rumah ini karena angka

30 dalam statistik dianggap sebagai batasan jumlah angka sedikit. Angka yang kurang dari 30 disebut jumlah populasi sedikit. Secara teori, bila dibuat kurva dengan sampel 30, akan mendekati kurva normal. Kurva normal merupakan suatu petunjuk bahwa jumlah tersebut banyak, karena kurva normal merupakan suatu petunjuk adanya jumlah untuk suatu fenomena alam, yang dalam jumlah besar akan selalu membentuk kurva normal.

Jumlah sampel yang akan diteliti secara keseluruhan dari ketiga kelurahan menjadi 90 rumah, dimana dipilih masing-masing 10 rumah dari tiap RW yang telah ditetapkan. Larva *Ae. Aegypti* diambil dari TPA yang berada pada rumah yang menjadi sampel.

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah:

1. Pemilik rumah bersedia menjadi responden dengan *inform consent*.
2. Rumah yang memiliki sarana tempat penampungan air.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **3.5.1 Pengumpulan larva**

Larva yang digunakan untuk penelitian ini adalah larva *Ae. aegypti* yang langsung diambil dari lapangan, instar III-IV.

Alat dan bahan yang digunakan untuk koleksi larva dan pemeliharaan larva adalah senter, gayung, pipet, kaca pembesar, mikroskop, gelas plastik, plastik, baskom, pelet ikan dan *aquadest*.

#### **3.5.2 Uji kerentanan *Ae.aegypti* terhadap temefos dengan tehnik *bioassay***

Alat dan bahan yang digunakan adalah Abate 1G (temefos 1%), larva *Ae.aegypti* instar III- IV, baskom, *counter*, gelas plastik, gelas ukur 1 liter, timbangan digital, pipet dan *aquadest*.

### **3.6 Cara Kerja**

#### **3.6.1 Pengumpulan larva**

Koleksi larva dari lapangan menggunakan metode *single larva method* yang artinya di dalam sebuah TPA jika ditemukan satu ekor larva *Ae.aegypti* dianggap keseluruhan larva yang terdapat di dalam TPA tersebut adalah *Ae.aegypti*. TPA disenter untuk melihat gerakan dari larva, karena larva *Ae.aegypti* bergerak cepat ketika diberi rangsang cahaya. Identifikasi jenis

larva menggunakan mikroskop atau kaca pembesar. Larva yang ditemukan diambil menggunakan gayung dan pipet kemudian dimasukkan kedalam baskom yang telah diberi label nama kelurahan kemudian dibawa ke Laboratorium Parasitologi FK UR. Larva yang digunakan untuk percobaan selanjutnya adalah larva instar III-IV.

### **3.6.2 Uji Kerentanan *Ae.aegypti* terhadap temefos dengan teknik *bioassay***

Uji kerentanan dilakukan dalam 2 tahap yaitu uji pendahuluan dan uji yang sesungguhnya

#### **3.6.2.1 Uji Pendahuluan**

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan batas ambang atas dan ambang bawah konsentrasi temefos yang digunakan. Uji pendahuluan dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pertama menggunakan dosis Abate 1G sebesar 0; 0,000001; 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1 g/l. Pada masing-masing konsentrasi dimasukkan 10 ekor larva yang merupakan gabungan larva dari ketiga wilayah dan diamati tingkat kematian larva setelah 24 jam. Keseluruhan konsentrasi dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Dari uji tersebut ditentukan  $LC_{0}$  48 jam dan  $LC_{100}$  24 jam. Berdasarkan hasil pada uji pendahuluan pertama dilakukan uji pendahuluan kedua dengan konsentrasi abate 1G 0; 0,000001; 0,0000025; 0,000005; 0,00001; 0,0001; 0,001 g/l. Masing-masing konsentrasi dimasukkan 30 ekor larva yang merupakan gabungan dari seluruh wilayah dan dinilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{100}$  dalam 24 jam dan dilakukan 2 kali pengulangan.

#### **3.6.2.2 Uji Sesungguhnya**

Berdasarkan konsentrasi yang diperoleh pada uji pendahuluan tahap dua ditentukan konsentrasi temefos yang akan digunakan dimana konsentrasi yang digunakan mencakup  $LC_{50}$ ,  $LC_{100}$  dan minimal dua konsentrasi di atas  $LC_{100}$  yaitu: 0; 0,0000025; 0,000005; 0,000001; 0,00001; 0,00005; 0,0001; 0,001; 0,05; 0,1 g/l abate. Masing-masing konsentrasi dimasukkan 30 larva dari masing-masing kelurahan. Perlakuan dilakukan dengan dua kali pengulangan. Kemudian diamati  $LC_{50}$  dan  $LC_{99}$  dengan analisis probit. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan nilai diagnostik resistensi berdasarkan WHO dimana dikatakan resisten jika  $LC_{99}$  24 jam didapatkan konsentrasi temefos lebih dari 0,02 mg/l. Oleh karena penelitian ini menggunakan abate, maka untuk mendapatkan konsentrasi temefos terlebih dahulu konsentrasi tersebut dikonversikan, dimana abate mengandung 1% temefos.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis regresi probit untuk memperoleh nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{99}$ .

### 3.8 Defenisi Operasional

- a. Kerentanan larva *Ae.aegypti* yaitu keefektifan temefos untuk membunuh larva *Ae.aegypti*. dikatakan resisten jika  $LC_{99}$  24 jam melebihi standar WHO yaitu 0,02 mg/l
- b. Larva *Ae.aegypti* yaitu larva nyamuk *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Tempat Penampungan Air beberapa rumah penduduk di daerah Kelurahan Marpoyan Damai, Kelurahan Meranti Pandak dan Kelurahan Tebing Tinggi Okura. Larva yang digunakan pada penelitian ini adalah larva instar III- IV.
- c.  $LC_{50}$  adalah konsentrasi temefos yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dari larva *Ae.aegypti* yang diuji
- d.  $LC_{99}$  adalah konsentrasi temefos yang dibutuhkan untuk membunuh 99% dari larva *Ae.aegypti* yang diuji
- e.  $LC_0$  adalah konsentrasi temefos yang dibutuhkan untuk membunuh 0% dari larva *Ae.aegypti* yang diuji
- f.  $LC_{100}$  adalah konsentrasi temefos yang dibutuhkan untuk membunuh 100% dari larva *Ae.aegypti* yang diuji
- g. Daerah endemis DBD adalah kelurahan yang memiliki kasus DBD selama 3 tahun berturut-turut berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru selama tahun 2006-2008. Daerah yang dipilih adalah Kelurahan Marpoyan Damai Kecamatan Tangkerang Tengah
- h. Daerah sporadis DBD adalah kelurahan yang kasus DBD tidak berturut-turut 3 tahun berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru selama tahun 2006-2008. Daerah yang dipilih adalah Kelurahan Meranti Pandak Kecamatan Rumbai Pesisir
- i. Daerah bebas DBD adalah kelurahan yang tidak memiliki jumlah kasus DBD selama tahun 2006-2008 berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru. Daerah yang dipilih adalah Kelurahan Tebing Tinggi Okura Kecamatan Rumbai Pesisir sebagai satu-satunya daerah beba