

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian non eksperimental analitik dengan desain *cross-sectional* untuk mengetahui hubungan resistensi nyamuk *Aedes aegypti* terhadap malathion dengan kejadian DBD di Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Yogyakarta.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* yang berasal dari Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Yogyakarta.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah larva instar III akhir atau instar IV awal *Aedes aegypti* yang diambil di beberapa pedukuhan di Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Yogyakarta yang dipilih secara acak. Jumlah pedukuhan yang diambil sebanyak 30 dari 59 pedukuhan yang ada di Kecamatan Gamping.

Tabel 3.1. Pengambilan Sampel Pedukuhan pada setiap Kelurahan sebagai Unit Penelitian

No	Nama Desa	Jumlah Pedukuhan	Jumlah Pedukuhan yang digunakan untuk penelitian
1.	Balecatur	18	9
2.	Ambarketawang	13	7
3.	Banyuraden	8	4
4.	Nogotirto	8	4
5.	Trihanggo	12	6
Total		59	30

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Pengambilan sampel di pedukuhan terpilih dengan *proportional random sampling* di Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Yogyakarta.
- b. Uji resistensi dilakukan di Unit Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan sekitar bulan Januari - Mei 2017.

D. Variabel Penelitian

Variabel bebas : Tingkat resistensi nyamuk *Aedes aegypti* terhadap malathion

Variabel terikat : Kejadian DBD

E. Definisi Operasional

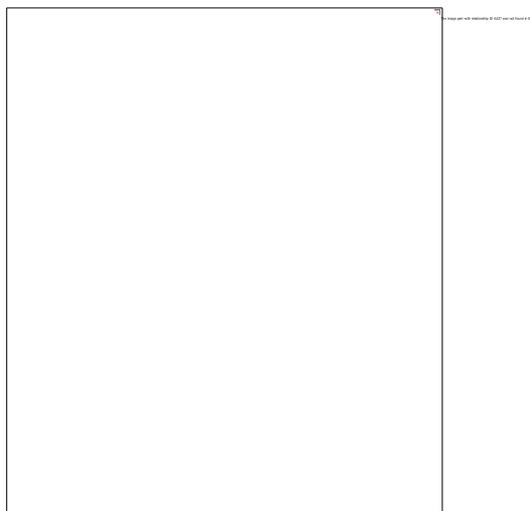
1. Tingkat Resistensi nyamuk dinilai dengan uji resistensi biokimia. Hasil uji resistensi biokimia akan dinilai dengan cara kualitatif dengan penilaian visual. Tingkat Resistensi dibagi menjadi empat kategori yaitu rentan (SS), resisten rendah (RR), resisten sedang (RS), dan resisten tinggi (RT). Rentan ditunjukkan apabila pada hasil uji resistensi biokimia dihasilkan warna kuning atau *colorless*. Resisten sedang ditunjukkan apabila pada hasil uji resistensi biokimia dihasilkan warna biru muda atau *faint*. Resistensi sedang ditunjukkan apabila pada hasil uji resistensi biokimia

dihasilkan warna biru kehijauan. Resisten tinggi ditunjukkan apabila pada hasil uji resistensi biokimia dihasilkan warna biru tua.

2. Kejadian DBD disini akan dibagi menjadi 3 tingkatan yaitu tinggi, sedang, dan rendah. Tingkatan tersebut akan berdasarkan data jumlah kejadian DBD di setiap pedukuhan di Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Yogyakarta dari tahun 2008 sampai tahun 2014. Kriteria rendah adalah ketika jumlah kejadian DBD di pedukuhan tersebut kurang dari 10 kejadian, sedangkan kriteria sedang ketika terdapat 10-18 kejadian dan criteria tinggi jika didapatkan lebih dari 18 kejadian.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Pengumpulan telur nyamuk *Aedes aegypti* (*Ovitrap*)



Gambar 3.1. Ovitrap

Ovitrap terdiri dari gelas yang sudah dicat hitam atau dilapisi kertas hitam sehingga bagian dalamnya akan menjadi gelap, kertas saring yang ditempatkan di dalam gelas sebagai sarana nyamuk untuk

bertelur, serta pelindung atau atap jika ovitrap diletakkan di luar rumah untuk mencegah air masuk.

2. Pemeliharaan dari menetasnya telur *Aedes aegypti* hingga menjadi larva instar III akhir atau larva instar IV awal
 - a. Wadah yang lebar sebagai tempat penetasan telur nyamuk serta tempat tinggal larva nyamuk hingga berkembang menjadi larva instar III akhir atau larva instar IV awal
 - b. Pipet untuk mengambil larva yang siap untuk diuji
 - c. Pakan ikan sebagai pakan untuk larva nyamuk
 - d. Senter untuk mempermudah melihat larva nyamuk
3. Uji Resistensi Biokimia
 - a. Porcelin plate
 - b. Micropipet untuk mengambil larutan substrat dan reagen dalam jumlah mikroliter dan untuk memindahkan homogenat ke dalam sumuran microplates.
 - c. Microplate wells atau sumuran microplate sebagai tempat untuk mencampur homogenat nyamuk dengan bahan pereaksi lainnya.
 - d. Pipet tetes, pipet ukur, labu ukur, beker glass digunakan untuk membuat reagen.
 - e. Larva instar III akhir atau instar IV awal *Aedes aegypti* atau nyamuk dewasa *Aedes aegypti*
 - f. Larutan Phosphat Buffer Salin (PBS) 0,02 M, dengan pH = 7,

- g. Larutan substrat berupa α dan β naphthyl acetat dalam acetone (6 gr/dl) dicampur dengan 50 ml PBS (0,02 M; pH=7).
- h. *Coupling reagent* atau bahan pewarna berupa 150 mg garam Fast Blue B dalam 15 ml akuades dan 35 ml *aqueous* (5%;w/v) *sodium duodecyl sulphate* (Sigma).
- i. Larutan asam asetat 10%

G. Jalannya Penelitian

1. Persiapan Penelitian
 - a. Survey awal dilakukan untuk melihat lokasi penelitian.
 - b. Izin diminta kepada Badan Perencanaan Pembangunan Daerah (Bappeda) Kabupaten Sleman.
 - c. Koordinasi dilakukan bersama Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman.
 - d. Izin melakukan penelitian diminta kepada Kecamatan Gamping serta kelurahan dan pedukuhan yang digunakan untuk penelitian.
 - e. Izin penelitian diminta kepada Unit Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia untuk melakukan uji resistensi biokimia.
2. Pengumpulan telur nyamuk *Aedes aegypti* yang akan dikembangkan menjadi larva nyamuk instar III akhir atau instar IV awal
 - a. Gelas disiapkan untuk digunakan sebagai ovitrap yang kemudian diisi air setengah dari tinggi gelas.

- b. Kertas berwarna gelap dimasukkan ke dalam gelas agar gelas terlihat gelap, selain menggunakan kertas, gelas dapat dicat dengan cat berwarna gelap sebelum gelas tersebut diberi air.
 - c. Kertassaring yang lebih tinggi dibandingkan tinggi air ditempelkan pada bagian dalam gelas.
 - d. Ovitrap diletakkan pada tempat/ habitat yang disukai nyamuk. Jika ovitrap diletakkan di luar rumah, ovitrap diberi atap atau pelindung wadah agar tidak kemasukan air ketika hujan.
 - e. Ovitrap ditunggu selama 5-14 hari sampai ditemukannya telur dalam wadah tersebut.
 - f. Kertas saring yang sudah berisi telur dipindahkan dari ovitrap ke dalam wadah yang sudah disiapkan untuk pemeliharaan telur sampai menjadi larva instar III akhir atau instar IV awal.
 - g. Telur ditunggu hingga menetas menjadi larva instar III akhir atau instar IV awal selama kurang lebih satu sampai dua minggu.
 - h. larva diberi makan dengan bahan yang sudah disiapkan.
3. Uji Resistensi Biokimia
- a. Larva yang sesuai dengan persyaratan ditumbuk, dibuat homogenat dengan menambahkan 0,5 ml Buffer Phosphat.
 - b. Homogenat 50 μ l dimasukkan ke dalam sumuran mikroplate.
 - c. Larutan substrat (α naphthylacetat) 50 μ l ditambahkan ke dalam sumuran mikroplate kemudian ditunggu selama 60 detik.

- d. Larutan coupling reagent 50 μ l ditambahkan ke dalam sumuran *microplated* dan ditunggu selama 10 menit.
- e. Reaksi dihentikan segera dengan mencampur 50 μ l larutan asam acetat 10% (perubahan warna dari merah ke biru).
- f. Peningkatan aktivitas enzim *esterase* terlihat dari perubahan warna menjadi biru. Hasil akhir uji resistensi biokimia ini akan dinilai secara kualitatif dengan penilaian visual.
- g. Kriteria penentuan status resistensi, yaitu :
 - 1) Rentan (SS) : muncul warna kuning atau *colorless*
 - 2) Resistensi Rendah (RR) : muncul warna biru muda atau *faint*
 - 3) Resistensi sedang (RS) : muncul warna biru kehijauan
 - 4) Resistensi tinggi (RT) : muncul warna biru tua

H. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan analisis data dengan menggunakan uji korelasi Kendall Tau-b