BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen, penelitian eksperimen adalah metode untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasi kelompok eksperimental, dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. Manipulasi berarti mengubah secara sistematis sifat-sifat (nilai-nilai) variabel bebas. Setelah di manipulasikan, variabel bebas itu biasanya disebut garapan (*treatment*) (Payadnya & Jayantika, 2018).

Pada eksperimen ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai larvasida *Aedes aegypti* instar III berdasarkan konsentrasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hanya melihat satu pengaruh satu faktor peubah bebas (faktor) terhadap peubah respon (Susilawati, 2015). Variabel yang dikaji adalah konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi yaitu 0%, 20%, 30%, 40%, 50% yang terdiri dari 4 variasi kelompok perlakuan dan 1 variasi kelompok kontrol (non perlakuan).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan waktu penelitian dilakukan pada bulan April-Mei tahun 2022.

C. Subjek Penelitian

Besar sampel untuk satu perlakuan dalam penelitian eksperimen adalah 25 (WHO, 2005). Subjek yang diteliti adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang dikembangkan sendiri. Banyaknya replikasi setiap perlakuan dicari menggunakan rumus Federer (1977) (Fadilla, 2019 dalam Nurmawati, 2021).

$$(t-1)\,(r-1) \geq 15$$

Keterangan : t = perlakuan

r = replikasi (pengulangan)

15 = derajat kebebasan umum

$(t-1)\,(r-1) \geq 15$

$(5-1)\,(r-1) \geq 15$

$4\,(r-1) \geq 15$

$4r - 4 \geq 15$

$4r \geq 15+4$

$4r \geq 19$

$r \geq 19/4$

$r \geq 4{,}75 = 5$ kali pengulangan

Berdasarkan perhitungan di atas ditetapkan jumlah pengulangan sebanyak 5 kali untuk setiap perlakuan, sehingga jumlah perlakuan sebanyak 25 kali, yang terdiri dari 20 perlakuan dan 5 kontrol. Sedangkan jumlah sampel larva nyamuk yang digunakan yaitu sebanyak 25 larva pada masing-masing perlakuan maupun

kontrol. Sehingga jumlah seluruh larva nyamuk yang dibutuhkan (25 larva x 5 variasi x 5 pengulangan) sebanyak 625 larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Tabel 3.1
Variasi Konsentrasi Infusa Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti* Instar III

Konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*)				
(A) 0%	(B) 20%	(C) 30%	(D) 40%	(E) 50%

Pada penelitian ini dilakukan randomisasi atau pengacakan dengan menggunakan cara undian seperti berikut :

1. Menyiapkan 5 (t x r = 5 x 5 = 25) potongan kertas untuk 1 kali replikasi dan menuliskan simbol-simbol (A, B, C, D, E) yang menunjukkan perlakuan.
2. Campurkan ke 5 potongan kertas tersebut ke dalam satu wadah. Mengambil satu potongan kertas tersebut, tanpa dikembalikan, mengambil satu kertas lagi dan seterusnya.
3. Sebelum mengambil potongan kertas dalam wadah, diaduk-aduk dahulu, dan menuliskan tulisan pada potongan kertas tersebut pada tabel. Hasil randomisasi sampel disajikan sebagai berikut :

Tabel 3.2
Hasil Randomisasi Sampel Replikasi I

C	A	B	E	D

Tabel 3.3
Hasil Randomisasi Sampel Replikasi II

E	B	C	D	A

Tabel 3.4
Hasil Randomisasi Sampel Replikasi III

B	A	E	C	D

Tabel 3.5
Hasil Randomisasi Sampel Replikasi IV

A	E	B	D	C

Tabel 3.6
Hasil Randomisasi Sampel Replikasi V

B	D	A	C	E

D. Variabel Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang berkaitan dengan kondisi, keadaan, faktor, perlakuan atau tindakan yang diperkirakan dapat mempengaruhi hasil eksperimen (Payadnya & Jayantika, 2018). Variabel dalam penelitian ini yaitu :

a. Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas merupakan variabel yang kedudukannya memberi pengaruh terhadap variabel terikat (Payadnya & Jayantika, 2018). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) yang terdiri dari 0% sebagai kontrol dan 20%, 30%, 40%, 50% sebagai perlakuan untuk melihat pengaruh infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai larvasida *Aedes aegypti* instar III.

Konsentrasi dipilih berdasarkan penelitian (Mangelep, 2018), menggunakan sari batang serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai larvasida *Aedes.sp* dengan menggunakan konsentrasi 0 % sebagai kontrol, dan 20%, 30%, 40%, 50% sebagai perlakuan. Pada penelitian tersebut sari batang serai dapur (*Cymbopogon citratus*)

yang paling efektif sebagai larvasida *Aedes.sp* adalah konsentrasi 40% dan 50% mampu mematikan larva *Aedes sp* selama 24 jam dengan kematian >50% yaitu 100%. Maka peneliti memilih memakai dasar penelitian tersebut untuk menentukan konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai larvasida *Aedes aegypti* instar III.

b. Variabel Terikat (*Dependent*)

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat dari pengaruh variabel bebas (Payadnya & Jayantika, 2018). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* intar III yang mati.

c. Variabel Pengganggu (*Confounding*)

Variabel pengganggu adalah variabel yang dapat mengganggu hubungan antara 2 variabel baik *independent* dan *dependent* (Swarjana, 2015). Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah suhu dan pH. Variabel pengganggu dapat dikendalikan dengan cara sebagai berikut :

- Suhu dikendalikan dengan cara melakukan penelitian pada satu ruangan, suhu diatur pada 25-30^{o}C.
- pH dikendalikan dengan cara menggunakan air dari sumber yang sama dan pH pada kondisi 6,8-8,5.

E. Definisi Operasional

Definisi operasional adalah batasan pengertian yang dijadikan pedoman untuk melakukan suatu kegiatan atau pekerjaan, misalnya penelitian (Widjono, 2007).

Tabel 3.7
Definisi Operasional Infusa Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)
Sebagai Larvasida *Aedes aegypti* instar III

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*)	Infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) didapatkan dengan proses infusa yaitu merebus simplisia serai dapur menggunakan air pada suhu 90^0C selama 15 menit. Masing-masing konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran.	Volumetri	Pengukuran	20% 30% 40% 50%	Interval
2.	Jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*	Banyaknya larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah kontak dengan infusa serai dapur (*Cymbopogon*	Tally Counter	Observasi	25 ekor	Ratio

		citratus) pada berbagai konsentrasi.				
3.	Suhu	Besaran yang menyatakan derajat panas dinginnya air pada media	Termometer Batang	Pengukuran	25-30 ^{o}C	Interval
4.	pH	Derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan air pada media	pH Meter	Pengukuran	6,8-8,5	Interval

F. Pengumpulan Data

Tabel 3.8
Teknik Pengumpulan Data

No.	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1.	Konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*)	1. Pengukuran 2. Alat ukur volumetri 3. Menggunakan rumus pengenceran $V_1.\%_1 = V_2.\%_2$
3.	Jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*	1. Observasi 2. Alat ukur tally counter 3. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24
4.	Suhu	1. Pengukuran 2. Alat ukur termometer batang 3. Di ukur pada masing-masing blok sampel
5.	pH	1. Pengukuran 2. Alat ukur pH Meter 3. Di ukur pada masing-masing blok sampel

G. Tahapan Penelitian

Penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu :

1) Tahap Persiapan

a) Pembuatan Infusa Batang Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

1. Tahap awal dimulai dengan pembuatan simplisia. Batang serai dapur (*Cymbopogon citratus*) ditimbang seberat 4 kg. Batang serai yang digunakan yaitu bewarna hijau keputih-putihan
2. Batang serai kemudian dicuci menggunakan air mengalir supaya terhindar dari kotoran dan tiriskan. Batang serai yang telah dicuci kemudian dipotong kecil-kecil.

3. Lakukan proses menjemur batang serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dengan cara diangin-anginkan di dalam ruangan sampai kering agar air di dalam batang serai dapur menguap atau dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50-60^{0}C selama 24 jam. Serai dapur (*Cymbopogon citratus*) yang telah kering disebut simplisia.
4. Kemudian simplisia dihaluskan menggunakan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk halus.
5. Pembuatan infusa serai dapur dilakukan dengan metode infundasi, yaitu merebus simplisia serai dapur dengan menggunakan air sebagai pelarutnya dengan perbandingan 1:3 (400 gram simplisia serai dapur : 1,2 liter air) sehingga didapatkan infusa serai dapur dengan konsentrasi 100%, dipanaskan diatas *hot plate* pada suhu 90^{0}C selama 15 menit sambil sesekali diaduk (Badan POM RI, 2007). Selanjutnya disaring menggunakan kain flanel, lalu di masukkan kedalam botol infusa.
6. Pengenceran infusa dilakukan dengan menggunakan air aquades. Untuk pembuatan berbagai macam konsentrasi yang diperlukan dapat menggunakan rumus :

$$V_1 . \%_1 = V_2 . \%_2$$

Keterangan :

$\%_1$ = Konsentrasi infusa serai dapur yang tersedia (%)

V_1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

$\%_2$ = konsentrasi infusa serai dapur yang akan dibuat (%)

V_2 = Volume larutan (air + infusa) yang diinginkan (ml)

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi sebagai perlakuan dan 1 konsentrasi sebagai kontrol (20%, 30%, 40%, 50% dan 0%) dilarutkan dengan 100 ml aquades.

Tabel 3.9

Formulasi Konsentrasi Infusa Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

$\%_1$	V_2	$\%_2$	$V_1 = \frac{V_2 \times \%_2}{\%_1}$	Pengulangan (V_1 x 5)
100%	100ml	20%	20ml	100ml
100%	100ml	30%	30ml	150ml
100%	100ml	40%	40ml	200ml
100%	100ml	50%	50ml	250ml
Total			140ml	700ml

Perhitungan:

- Konsentrasi 20%

$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$

100% x V_1 = 20% x 100 ml

$V_1 = \frac{2000}{100}$

V_1 = 20 ml

Jadi, 20 ml larutan infusa serai dapur dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 80 ml.

- Konsentrasi 30%

$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$

100% x V_1 = 30% x 100 ml

$V_1 = \frac{3000}{100}$

V_1 = 30 ml

Jadi, 30 ml larutan infusa serai dapur dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 70 ml.

- Konsentrasi 40%

$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$

$100\% \times V_1 = 40\% \times 100 \text{ ml}$

$V_1 = \frac{4000}{100}$

$V_1 = 40 \text{ ml}$

Jadi, 40 ml larutan infusa serai dapur dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 60 ml.

- Konsentrasi 50%

$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$

$100\% \times V_1 = 50\% \times 100 \text{ ml}$

$V_1 = \frac{5000}{100}$

$V_1 = 50 \text{ ml}$

- Jadi, 50 ml larutan infusa serai dapur dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 50 ml.

b) Persiapan Larva *Aedes aegypti*

1. Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang diteliti yaitu hasil pembiakan dari telur yang diperoleh dari Loka Litbang P2B2 Pangandaran Jawa Barat.
2. Telur nyamuk *Aedes aegypti* dipelihara di dalam baskom atau nampan plastik dan diberi penutup kain berlubang kecil diatasnya.

3. Setelah telur menetas dan mencapai stadium instar I, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi makanan ikan (*fish food*).
4. Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang telah mencapai stadium larva instar III dipindahkan ke tiap wadah (gelas plastik). Larva yang menjadi sampel penelitian yaitu larva *Aedes aegypti* instar III yang berukuran 4-5 mm atau yang berumur 3-4 hari setelah telur menetas.

2) Tahap Penelitian

a. Alat

1. Beaker glass
2. Gelas ukur 100 ml
3. Gelas uji plastik
4. Stopwatch
5. Pipet ukur 10 ml
6. Label
7. Pulpen
8. Bulb
9. Termometer
10. Tally counter
11. pH Meter

b. Bahan

1. Larva nyamuk *Aedes aegypti* intar III
2. Infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*)

3. Aquadest

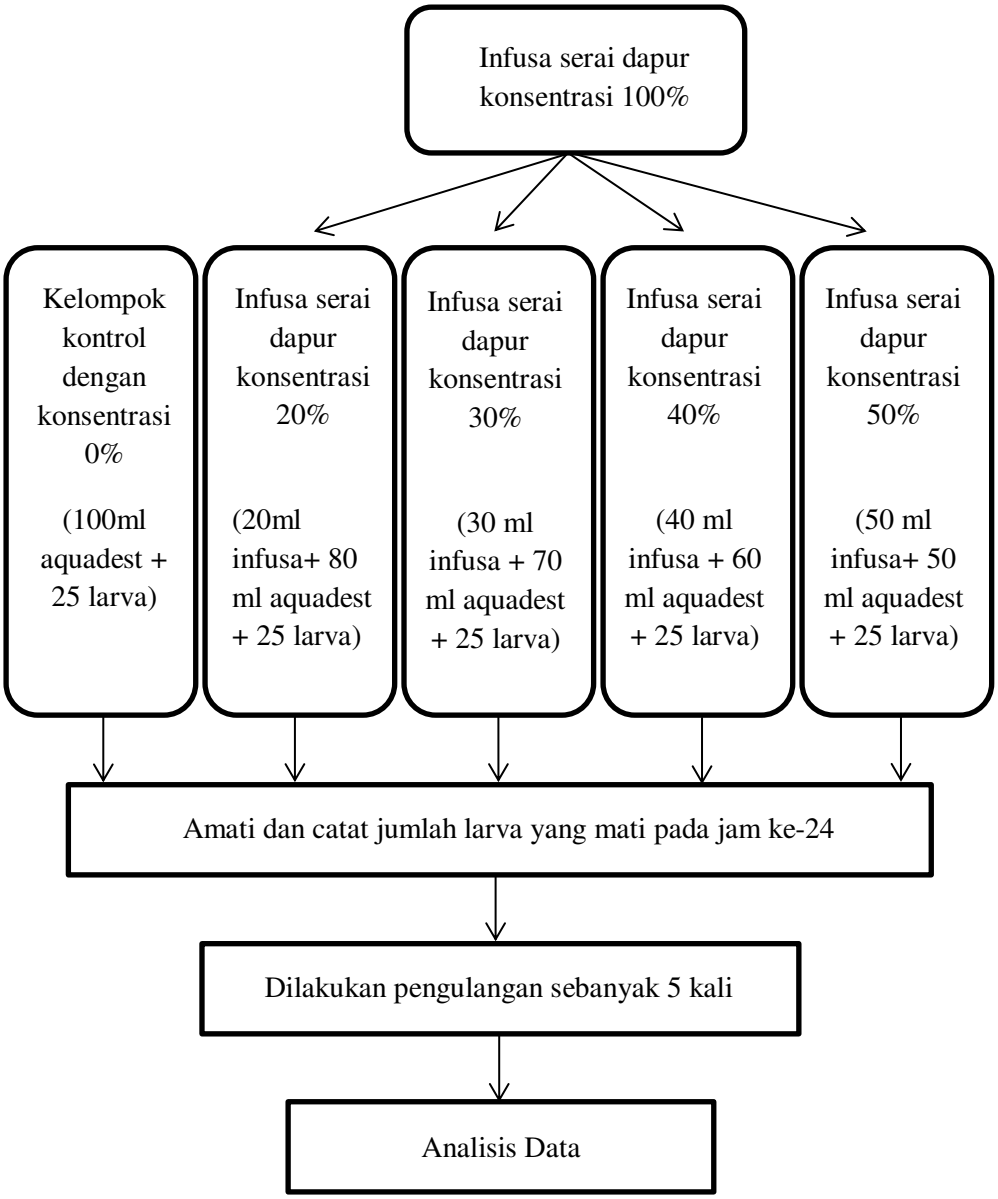
c. Cara Kerja

1. Siapkan 5 gelas uji untuk satu kali pengulangan (4 gelas untuk perlakuan dan 1 gelas untuk kontol). Jumlah gelas yang diperlukan pada penelitian ini yaitu 25 buah.
2. Beri label pada masing-masing gelas uji sesuai konsentrasi yang akan digunakan.
3. Isi gelas uji tersebut menggunakan aquadest dan infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*). Untuk konsentrasi 20% (20ml infusa + 80ml aquadest), konsentrasi 30% (30ml infusa + 70ml aquadest), konsentrasi 40% (40ml infusa + 60ml aquadest), konsentrasi 50% (50ml infusa + 50ml aquadest), untuk 0% sebagai kontrol diisi 100ml aquadest.
4. Ukur suhu dan pH pada masing-masing gelas uji.
5. Setelah itu masukkan 25 larva *Aedes aegypti* intar III ke masing-masing gelas uji.
6. Amati dan catat jumlah kematian larva pada jam ke-24. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Kematian larva nyamuk adalah apabila larva *Aedes aegypti* instar III disentuh tidak bergerak dengan kriteria objektif sebagai berikut :

   Hidup : Apabila larva disentuh dan masih mengalami pergerakan.

   Mati : Apabila larva disentuh tidak bergerak lagi (Afrindayanti, 2017).

d. Alur Penelitian



H. Analisis Data

1. Analisis Univariat

Analisis univariat dilakukan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis univariat tergantung dari jenis datanya. Untuk data numerik, digunakan nilai mean atau rata-rata, median, modus, dan standar deviasi (Masturoh & Anggita, 2018). Variabel yang di uji secara univariat adalah persentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah kontak dengan infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) pada setiap konsentrasi.

2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan untuk mengetahui pengaruh masing-masing variabel bebas (*independent*) terhadap variabel terikat (*dependent*). Analisis bivariat dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkolerasi (Sumantri, 2015). Teknik analisis yang digunakan adalah analisis Regresi Linier Sederhana.

Regresi Linier Sederhana digunakan untuk mengetahui pengaruh antara satu buah variabel bebas terhadap satu buah variabel terikat. Variabel yang diuji dalam Regresi Linier Sederhana adalah konsentrasi infusa serai dapur (*Cymbopogon citratus*) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.

3. Analisis Uji Toksisitas

Penentuan *Lethal Concretation*$_{50}$ (LC_{50}) digunakan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk melihat estimasi besar dosis atau konsentrasi yang dapat mengakibatkan mortalitas larva *Aedes aegypti* sebesar 50% (LC_{50}).