### **BAB III**

### METODE PENELITIAN

# A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*). terhadap kematian larva *Aedes aegypti* instar III berdasarkan konsentrasi danwaktu kontak. Penelitian yang dilakukan menggunakan Rancangan eksperimen *Posttest-only with Control Group Design* yaitu dimana satu kelompok dilakukan perlakuan dan satu kelompok lagi merupakan kontrol (tidak dilakukan perlakuan). Dan pada akhir penelitian kedua kelompok dikenai *Posttest*.

Rancangan Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *cross-sectional*. Penelitian *cross-sectional* adalah suatu penelitian untuk mempelajari dinamika korelasi antara faktor-faktor risiko dengan efek, dengan cara pendekatan, observasional, atau pengumpulan data. Penelitian *cross-sectional* hanya mengobservasi sekali saja dan pengukuran dilakukan terhadap variabel subjek pada saat penelitian (Notoatmojo, 2010).

Pemilihan subjek ke dalam kedua kelompok yang dikenai eksperimen menggunakan proses randomisasi. Randomisasi sampel menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, merupakan eksperimen yang menggunakan lebih dari satu perlakuan atau lebih dari satu variabel bebas, rancangan acak lengkap faktorial digunakan apabila terdiri atas dua faktor atau lebih dengan melakukan kombinasi antar level faktor (Herdianto, 2013 dalam

Ahyanti, 2018 dalam Putri, 2019). Jumlah level tiap level faktor dan atau jumlah replikasi yang dilakukan mungkin tidak sama, blok sampel yang digunakan

Randomized sampling yang terdiri dari 6 taraf konsentrasi (0% sebagai kontrol, 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% sebagai perlakuan) dan 4 tarafwaktu kontak, sehingga jumlah variasi yang didapatkan yaitu 24 variasi. Secara lengkap variasi perlakuan adalah sebagai berikut

Tabel 3.1

Variasi konsentrasi dan waktu kontak ekstrak buah ceremai

(Phyllanthus acidus [L.] Skeels) terhadap kematian larva nyamuk

Aedes aegypti instar III

Konsentrasi Ekstrak Buah Ceremai (Phyllanthus acidus [L.] Skeels) (%)						
Waktu Kontak	(A) 0 %	(B) 2%	(C) 4 %	(D) 6 %	(E) 8 %	(F) 10 %
(1) 6 jam	A1	B1	C1	D1	E1	F1
(2) 12 jam	A2	B2	C2	D2	E2	F2
(3) 18 jam	A3	В3	C3	D3	E3	F3
(4) 24 jam	A4	B4	C4	D4	E4	F4

### B. Lokasi Penelitian Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Vektor Jurusan Kesehatan Lingkungan, Poltekkes Tanjung Karang dan waktu penelitiam dilaksanakan pada bulan April hingga Mei tahun 2022

### C. Subjek Penelitian

Menurut WHO (2005), besar sampel untuk satu perlakuan dalam penelitian eksperimen adalah 25. Subjek yang diteliti adalah larva *Aedes aegypti* yang dikembangkan sendiri. Larva yang digunakan yaitu 25 ekor untuk setiap perlakuan dan kontrol. Banyaknya replikasi setiap perlakuan dicari menggunakan

rumus Federer (1977) dalam penelitian Lestari (2020), sebagai berikut:

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

$$(24-1)(r-1) \geq 15$$

$$23(r-1) \geq 15$$

$$23r-23 \geq 15$$

$$23r \geq 15+23$$

$$23r \geq 38$$

$$R \geq 38/23$$

$$= 1,65 = 2$$

t = perlakuanr r = replikasi

Berdasarkan perhitungan diatas maka replikasi penelitian dilakukan sebanyak 2 kali sehingga jumlah perlakuan sebanyak 40 kali. Selanjutnya, untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan, maka digunakan kontrol pada setiap waktu kontak perlakuan. Maka akan diperoleh 48 data penelitian yang terdiri dari 40 data perlakuan dan 8 data non-perlakuan (kontrol). Sehingga jumlah larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan sebanyak 1200 ekor (48 x 25 ekor).

Pemilihan subjek ke dalam kedua kelompok yang dikenai eksperimen menggunakan proses randomisasi. Randomisasi sampel menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial Berdasarkan Modul pengantar perancangan percobaan, randomisasi dan *Lay Out*, Penelitian ini dilakukan randomisasi dengan blok (*Blocked randomization*). Randomisasi dan pembuatan *Lay Out* dengan cara undian, dengan langkah langkah:

a. Siapkan 48 (t  $\times$  r = 24  $\times$  2 = 48) potong kertas, dan tuliskan simbol simbol A1, A2, A3......B1, B2, B3,.....E1, E2, E3, F1,

- F2,F3.....) yang menunjukkan perlakuan. Campurkan ke 48 potong kertas dengan tulisan perlakuan dan ulangan tersebut dalam satu wadah.
- b. Ambillan satu potong kertas tersebut tersebut, tanpa dikembalikan, ambil satu kertas lagi, dan seterusnya. Sebelum mengambil potongan kertas dalam wadah, harap diaduk aduk dulu, dan tuliskan tulisan pada potongan kertas kertas tadi pada tabel *Lay Out* yang telah dipersiapkan.

Hasil randomisasi blok sampel disajikan sebagai berikut:

Tabel 3.2 Randomisasi Blok Sampel Replika 1

B4	A4	B2	E3	D1	F4
B1	В3	A2	D4	<b>E</b> 1	C3
<b>C2</b>	D3	E2	F1	A3	D2
<b>E4</b>	<b>C</b> 1	F2	A1	C4	F3

Tabel 3.3 Randomisasi Blok Sampel Replika 2

<b>C2</b>	<b>A4</b>	<b>D2</b>	<b>B1</b>	<b>E2</b>	<b>F2</b>
<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E</b> 1	C1	<b>F</b> 1	D1
C3	<b>A1</b>	<b>B2</b>	<b>B4</b>	C4	F4
D4	A3	В3	F3	D3	A2

### D. Variabel Penelitian

Variabel bebas (*independent*) dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak buah ceremai (Phyllanthus acidus [L.] Skeels) 0%, 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% serta waktu kontak 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam pengamatan terhadap kematian larva nyamuk Aedes aegypti, variabel terkendali dalam penelitian ini adalah pH dan suhu. Sedangkan untuk volume air sebanyak 100 ml untuk setiap perlakuan maupun kontrol. Dan variabel terikat (*dependent*) dalam penelitian ini adalah jumlah kematian larva nyamuk Aedes aegypti Instar III.

# E. Definisi Operasional

Tabel 3.4
Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Konsentrasi ekstrak buah	Jumlah konsentrasi ektrak buah cermai	Volumetri	Pengukuran	Persen (%) volume	Interval
	ceremai (Phyllanthus	(Phyllanthus acidus [L.] Skeels) yang			(0%,2%, 4%, 6%, 8%,	
	acidus [L.] Skeels)	digunakan.			dann 10%)	
2	Lama waktu kontak	Lamanya sampel larva Aedes aegypti	Stopwatch	Observasi/	Jam (Diamati setiap 6	Interval
		kontak dengan ekstrak buah ceremai		pengukuran	jam,12 jam, 18 jam,	
		(Phyllanthus acidus [L.] Skeels).			dan 24 jam)	
3	Jumlah kematian larva	Banyaknya larva Aedes aegypti yang mati	Tally	Observasi	Ekor (Jumlah Larva	Rasio
	Aedes aegypti	setelah perlakuan dengan variasi ekstrak	Counter		AedesAegypti yang	
		dan lama waktu kontak			mati)	
4.	Suhu	Derajat panas pada masing masing blok	Thermometer	Pengukuran	Derajat Celcius (°C)	Rasio
		Sampel				
5.	pН	Tingkat Keasaman pada masing masing	pH meter	Pengukuran	<6 : Asam	Interval
		blok sampel			>7 : Basa	
					=7 : Netral	

# F. Teknik Pengumpulan Data

Tabel 3.5 Teknik Pengumpulan data

No.	Variabel	Teknik Pengumpulan Data			
1	Konsentrasi	ekstrak	1.	Pengukuran	
	buah	ceremai	2.	Alat ukur volumetri	
	(Phyllanthus	acidus	3.	Buah ceremai diperoleh dari salah satu kebun	
	[L.] Skeels)			milik warga Desa Kurungan Nyawa	
			4.	Konsentrasi ektrak dihitung menggunakan	
				rumus $V_I.N_I = V_1.N_2$ (Perhitungan ekstrak	
				pada ada pada tahapan penelitian)	
2	Lama waktu ko	aktu kontak 1. Pengukuran		Pengukuran	
			2.	Alat ukur Stopwatch	
			3.	Pengukuran dilakukan pada waktu kontak 6	
				jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam	
3	Jumlah kematian larva  Aedes aegypti		1.	Observasi	
			2.	Alat ukur Tally Counter	
				Setiap terdapat larva yang mati, mata alat	
				ukur ditekan 1 kali	
			3.	Diamati pada waktu 6 jam, 12 jam, 18 jam,	
				dan 24 jam	
4	Suhu		1.	Pengukuran	
			2.	Alat ukur thermometer	
			3.	Diukur pada masing masing blok sampel	
5	pН		1.	Pengukuran	
			2.	Alat ukur pH meter	
			3.	Diukur pada masing masing blok sampel	

# G. Tahapan Penelitian

### 1. Alat dan Bahan

### a. Alat

- 1. Beaker Glass
- 2. Blender
- 3. Corong
- 4. Gelas Ukur
- 5. Pipet ukur 10 ml
- 6. Pipet ukur 5 ml
- 7. Timbangan
- 8. Pisau
- 9. Saringan plastik
- 10. Batang Pengaduk
- 11. Gelas uji plastic
- 12. Waterbath
- 13. pH meter
- 14. Thermometer raksa

# b. Bahan

- 1. Buah ceremai (Phyllanthus acidus [L.] Skeels)
- 2. Air keran
- 3. Larutan Etanol 96%
- 4. Kertas saring

### c. Tahapan Penelitian

- Pembuatan Ekstrak Buah Ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*).
   Modifikasi penelitian (Lestari, 2020):
  - a. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Tahap awal dimulai dengan pembuatan simplisia. Simplisia dibuat dengan cara mencuci buah ceremai dengan air megalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Buah ceremai dipisahkan dari bijinya dan ditimbang hingga seberat 1 kg. Selanjutnya buah ceremai dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50-60°C selama 24 jam atau dengan cara dikeringakan di ruangan hingga mengering sehingga didapat 100 gram simplisia buah ceremai.
  - b. Simplisia buah ceremai dihaluskan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk halus.
  - c. Pembuatan ekstrak etanol buah ceremai dilakukan dengan metode maserasi, yaitu merendam simplisia buah ceremai ke dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10 ( 100 gram simplisia : 100 ml etanol). Perendaman dilakukan selama 3 hari,dan campuran tersebut diaduk secara berkelanjutan setiap 8 jam sekali.
  - d. Hasil maserasi atau perendaman dari larutan tersebut disaring menggunakan kain kasa untuk mendapatkan filtrat hasil perendaman. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan waterbath dengan suhu 40 50°C hingga diperoleh hasil akhir berupa ektrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*)

dengan konsentrasi 100 % sebanyak 300 ml.

## 2. Persiapan Larva Aedes aegypti

Subjek yang diteliti adalah larva nyamuk Aedes aegypti hasil pembiakan dari telur yang diperoleh dari Loka Litbang P2B2 Pangandaran Jawa Barat. Untuk mendapatkan kondisi yang sesuai, telur nyamuk Aedes aegypti dipelihara dalam baskom atau nampan plastik dan diberi penutup kain berlubang kecil diatasnya. Setelah larva mencapai stadium larva instar I, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi makanan ikan (fish food). Larva nyamuk Aedes aegypti yang telah mencapai stadium larva instar III dipindahkan ke tiap wadah (gelas plastik), Larva yang menjadi sampel dalam penelitian adalah larva Aedes aegypti instar III yang berukuran 4-5 mm atau yang berumur 3-4 hari setelah telur menetas. Larva Aedes aegypti instar III digunakan karena pada fase ini larva aktif mengkonsumsi makanan di air (Afrindayanti, 2017). Pengambilan larva secara acak, menggunakan pipet tetes/ sendok plastik kemudian dimasukkan ke dalam gelas uji.

### 3. Kematian Larva

Kematian larvan nyamuk adalah larva dari 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)

### 4. Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji kerentanan masing masing sebesar 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menggunakan air aquades.

Pengeceran menggunakan rumus:

Untuk mendapatkan Dengan menggunakan rumus pengenceran:

$$\mathbf{V}_1 \times \mathbf{N}_1 = \mathbf{V}_2 \times \mathbf{N}_2$$

# Keterangan:

- N<sub>1</sub>: Konsetrasi ekstrak buah ceremai yang tersedia (%)
- V<sub>1</sub>: Konsentrasi larutan yang diinginkan (ml)
- N<sub>2</sub>: Konsentrasi ekstrak buah ceremai yang akan dibuat (%)
- V<sub>2</sub>: Volume larutan (air+ekstrak) yang diinginkan (ml)

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi perlakuan (0% sebagai kontrol, 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%) dilarutkan dengan aquades hingga 100ml.

Tabel 3.6. Formulasi Konsentrasi Buah Ceremai (Phyllanthusacidus [L.] Skeels)

	. •			
$N_1$	$V_2$	$N_2$	$\frac{V2.N2}{N1}$	Pengulangan
			V2	$(V_2 \times 2)$
100%	100 ml	2%	2 ml	4 ml
100%	100 ml	4%	4 ml	8 ml
100%	100 ml	6%	6 ml	12 ml
100%	100 ml	8%	8 ml	16 ml
100%	100 ml	10%	10 ml	20 ml
Total			30 ml	60 ml x 4
				= 240 ml

# Perhitungan:

Konsentrasi 2% 
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 2\%$$

$$V_1 = 200/100$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 4\%$$

$$V_1 = 400/100$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 6\%$$

$$V_1 = 600/100$$

$$V_1 = 6 \text{ ml}$$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 6\%$$

$$V_1 = 800/100$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 8\%$$

$$V_1 = 800/100$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 10\%$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 10\%$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 10\%$$

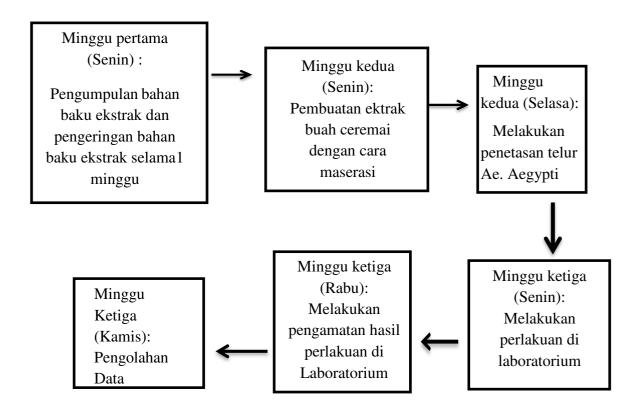
$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml } \times 10\%$$

- 5. Prosedur Penelitian
  - a. Siapkan 24 gelas uji untuk satu kali pengulangan (20 untuk perlakuan dan 4 untuk non-perlakuan (kontrol)

 $V_1 = 10 \text{ ml}$ 

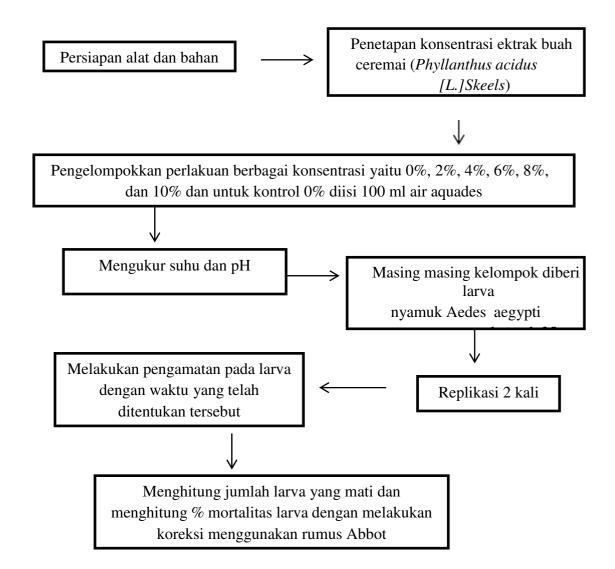
- b. Ini gelas uji tersebut menggunakan aquades dan ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*). Untuk konsentrasi 2% (2 ml ekstrak + 98 ml aquades), konsentrasi 4% (4 ml + 96 ml aquades), konsentrasi 6% (6 ml + 94 ml aquades,konsentrasi 8% (8 ml + 92 ml aquades), dan konsentrasi 10% (10ml + 90 ml aquades), untuk kontrol diisi dengan 100 ml aquades.
- c. Ukur suhu dan pH pada masing masing gelas uji
- d. Masukkan 25 ekor larva aedes aegypti pada setiap gelas uji
- e. Setelah itu, amati dan catat kematian larva pada lama waktu kontak 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam.

### 6. Alur Waktu Penelitian



# 7. Alur Kerja Penelitian

Mengikuti Guidlines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides oleh WHO (2005) dalam Lestari (2020), alur kerja penelitiannya adalah sebagai berikut:



### 8. Cara Melakukan Penelitian

a. Persiapan larva nyamuk Aedes aegypti
 Subjek penelitian ini adalah larva nyamuk Aedes aegypti hasil
 pembiakan dari telur yang diperoleh dari Loka Litbang P2B2

Pangandaran Jawa Barat. Untuk mendapatkan kondisi yang sama telur nyamuk *Aedes aegypti* dipelihara dalam baskom atau nampan plastik. Kemudia larva yang telah mencapai instar I, dimasukkan kedalam wadah yang berisi makanaikan (*Fish food*). Larva nyamuk aedes aegypti yang telah mencapai stadium larva dipindahkan ke tiap wadah (gelas plastik), larva yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larva instar III yang berukuran 4-5 mm (Supriyono, 2008 dalam Sarah (2020)

### b. Tahapan Perlakuan

Ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*) hanya diberikan pada kelompok perlakuan, dan pada kelompok nonperlakuan (kontrol) diberi perlakuan menggunakan aquadest. Diamati pada waktu 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam setelah perlakuan dinghitung jumlah larva yang mati. Besar sampel pada penelitian ini adalah 25 ekor larva *Aedes aegypti* untuk tiap kelompok dengan pengulangan 2 kali sehingga jumlah larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan 1.200 larva. Kelompok eksperimen dibagi menjadi 6 kelompok , diantaranya 1 kelompok non perlakuan (kontrol) dan 5 kelompok perlakuan dengan berbagai konsetrasi..

### H. Pengolahan dan Analisis Data

# 1. Pengolahan Data

### a. Coding

Coding adalah mengubah data berbentuk kalimat/huruf menjadi

suatu data angka atau bilangan.

### b. Editing

Sebelum data diolah, data perlu diedit terlebih dahulu. Data atau keterangan yang telah dikumpulkan dalam *record book* perlu dibaca sekali lagi apabila masih terdapat hal-hal yang salah atau meragukan maka perlu diperbaiki.

# c. Cleaning

Semua data dari setiap sumber data selesai dimasukkan, perlu dicek kembali untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, tidak lengkapnya data dan sebagainya, kemudian dilakukan pembetulan atau koreksi.

### d. Tabulating

Memasukkan data ke dalam tabel-tabel, dan mengatur angka-angka sehingga dapat dihitung jumlah kasus dalam berbagai kategori.

### 2. Analisis Data

#### a. Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis univariat tergantung dari jenis datanya. Untuk data numerik, digunakan nilai rata - rata dan atau rata- rata, median dan standar deviasi (Notoadmodjo, 2014). Variabel yang diuji secara univariat adalah presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah kontak dengan ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [L.] Skeels*) pada setiap konsentrasi.

### b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat yang dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Notoadmodjo, 2014). Analisis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan konsentrasi dan waktu pada masing-masingvariabel bebas (independen) terhadap variabel terikat (dependen). Uji Anova One Way digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata rata (rata - rata) antar kelompok yang terdiri dari satu variabel bebas dan satu variabel terikat variabel yang diuji dalam Anova One Way adalah konsentrasi ektrak buah ceremai (Phyllanthus acidus [L.] Skeels) dengan kematian larva Aedes Aaegypti, waktu kontak ekstrak buah ceremai (Phyllanthus acidus [L.] Skeels) dengan kematian larva Aedes aegypti

#### c. Analisis Multivariat

Analisis yang digunakan untuk mengetahui pengaruh hubungan dua variabel atau lebih variabel bebas (*independen*) terhadap variabel terikat (*dependen*). Analisis data menggunakan uji statistik Anova Two Way. Semua analisis data tersebut menggunakan program aplikasi SPSS. Uji Anova Two Way digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata – rata (*rata - rata*) antara dua variabel bebas (konsentrasi ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus [l.] Skeels*) dan waktu kontak (6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam) terhadap 1 satu variabel terikat (Kematian larva *Aedes aegypti*).