

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental menggunakan design Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial untuk mengetahui kemampuan efek peningkatan kadar flavonoid dan saponin dari ekstrak bunga kamboja (*Plumeria acuminata*) dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial adalah rancangan lapangan pada suatu lokasi yang homogen. Rancangan ini dikatakan acak karena setiap satuan percobaan mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan sedangkan dikatakan lengkap karena seluruh perlakuan yang dirancang dalam percobaan tersebut digunakan (Sunandi et al., n.d.).

Jumlah level tiap level faktor dan jumlah replikasi yang dilakukan mungkin tidak sama, blok sampel yang digunakan randomized sampling yang terdiri dari 4 level dosis (0gr/100ml sebagai kontrol, 5gr/100ml, 7gr/100ml, 10gr/100ml sebagai perlakuan) dan 4 waktu (Y1, Y2, Y3, dan Y4), sehingga jumlah variasi yang didapatkan yaitu 16 kombinasi. Secara lengkap variasi perlakuan adalah sebagai berikut :

B. Blok Desain

Tabel 3.1
Desain Variasi dan Dosis Bunga Kamboja

X \ Y	1 0gr/100ml	2 5gr/100ml	3 7gr/100ml	4 10gr/100ml
A	A1	A2	A3	A4
B	B1	B2	B3	B4
C	C1	C2	C3	C4
D	D1	D2	D3	D4

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Entomologi Balai Litbangkes Baturaja Sumatra Selatan dan untuk waktu penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2023.

D. Subjek dan Sampel Penelitian

1. Subjek

Subjek dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III karena larva ini ukurannya cukup besar sehingga mudah untuk diidentifikasi, selain itu larva instar III merupakan sampel penelitian yang menjadi standar WHO.

2. Sampel

Dalam penentuan terhadap sampel penulis menentukan jumlah sampel kadar flavanoid dan saponin pada campuran ekstrak bunga kamboja (*Plumeria acuminata*) serta variasi pengencer dengan 2 kali pengulangan. Besar sampel 2 kali pengulangan sebanyak 16 sampel yang akan di uji cobakan di Laboratorium Entomologi Balai Litbangkes Baturaja Sumatra

Selatan. Banyaknya replikasi/perlakuan setiap perlakuan di cari menggunakan rumus federer 1977 sebagai berikut (Nurhaedah & Irmawartini, 2017):

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan :

n : jumlah sampel tiap kelompok

t : jumlah kelompok perlakuan = 16 perlakuan

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (16-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 15 \geq 15$$

$$15n - 15 \geq 15$$

$$15n \geq 30$$

$$n \geq \frac{30}{15}$$

$$n \geq 2 \text{ pengulangan}$$

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu dan dosis ekstrak bunga kamboja (*Plumeria acuminata*) 0gr/100ml, 5gr/100ml, 7gr/100ml, 10gr/100ml. Jumlah perlakuan yang digunakan sebanyak 32 perlakuan dengan 2 kali pengulangan dan jumlah total larva sebanyak 800 ekor.

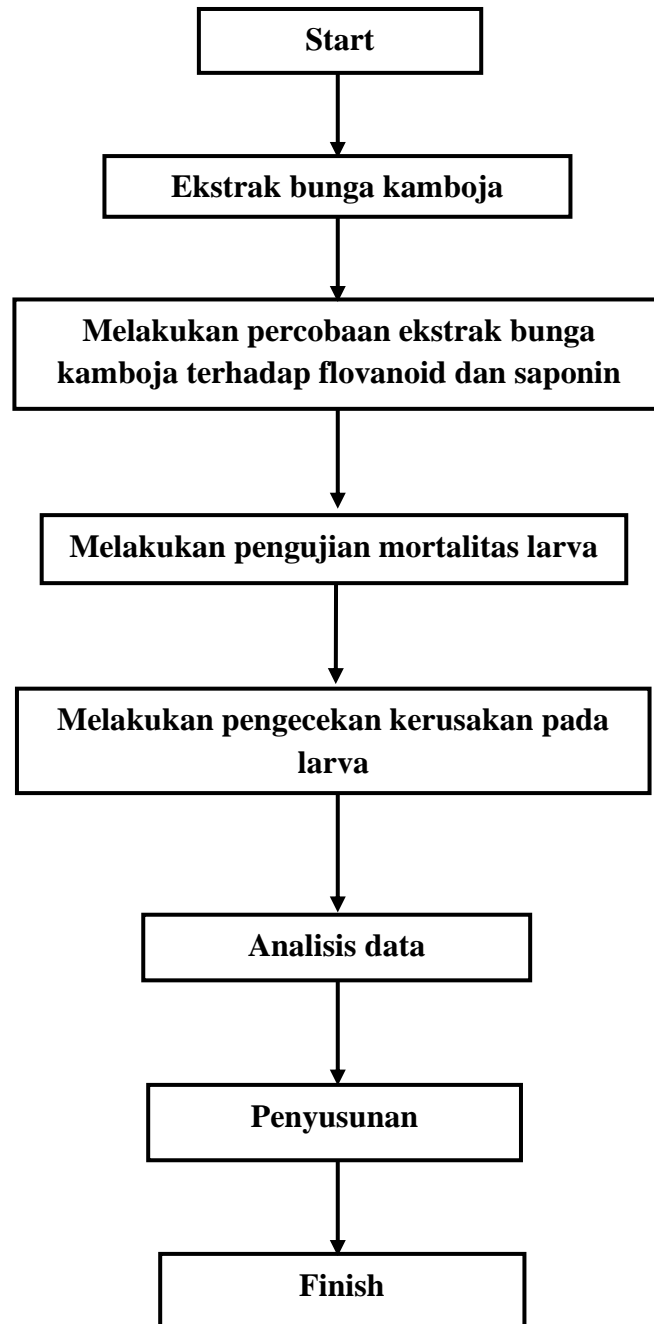
2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*.

F. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer berupa hasil pengamatan langsung peneliti terhadap jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang melakukan kontak langsung dengan objek penelitian dan data dikumpul dengan cara melakukan pengujian bunga kamboja (*plumeria acuminata*) yang di proses secara ekstraksi untuk melihat toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

G. Alur Penelitian



Gambar 3.1
Alur Penelitian

Keterangan :

1. Pembuatan ekstrak bunga kamboja dengan tambahan pelarut etanol.
2. Melakukan percobaan yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui kadar flavonoid dan saponin bunga kamboja sebanyak 16 sampel dengan 2 kali pengulangan.
3. Setelah didapatkan hasil laboratorium kadar flavonoid dan saponin masing-masing bahan, lalu melakukan pengujian mortalitas larva *Aedes aegypti* instrar III.
4. Setelah melakukan pengujian mortalitas larva selanjutnya dilakukan pengecekan kerusakan bagian pernafasan dan pencernaan pada larva instrar III.
5. Analisis data yang diperoleh kemudian diolah dan dianalisis, data yang terdiri dari banyak variabel, dan diduga antar variabel tersebut saling berhubungan atau berpengaruh satu sama lain.
6. Penyusunan laporan dilakukan setelah melakukan penelitian. Penyusunan laporan dibuat dengan sebaik mungkin supaya pembaca mudah memahaminya.

H. Tahap Penelitian

1. Tahap Persiapan

Alat :

- a. Kotak pemeliharaan
- b. Wadah telur nyamuk
- c. Wadah plastic
- d. Beaker glass

- e. Pipet ukur d
- f. Erlenmeyer
- g. Pipet tetes
- h. Kertas saringan
- i. Stopwatch
- j. Timbangan
- k. Blender/penumbuk
- l. Lemari pengering
- m. Kertas perkamen
- n. Maserator
- o. Pengaduk
- p. Rotary evaporator
- q. Botol plastic
- r. Batang pengaduk

Bahan :

- a. Telur nyamuk *Aedes aegypti*
- b. Bunga kamboja (*Plumeria acuminata*)
- c. Etanol 96%

2. Pembuatan Ekstra Bunga Kamboja (*Plumeris acuminata*)

Pada penelitian ini menggunakan bunga kamboja (*Plumeria acuminata*) yang diambil langsung dari kebun sedniri, yang memiliki warna bunga yang cukup beragam, mulai dari warna putih dan kuning hingga merah muda dan kuning. Menurut penelitian (Nuh et al., 2018) ekstraksi bunga kamboja yaitu :

- a. Menggumpulkan bunga kamboja secara acak.
- b. Bersihkan dengan menggunakan air bersih, lalu tiriskan sampai bersih.
- c. Setelah kering bunga kamboja digiling dan diayak sebanyak 400gr
- d. Serbuk direndam dengan ethanol 96% 30ml selama 1x24 jam dan di saring.
- e. Ampas direndam kembali sehingga diulang 3 kali.
- f. Kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-60°C sampai ethanol terpisah dan diperoleh ekstra kental 100%.
- g. Kemudian mengisi setiap botol plastik dengan perasan bunga kamboja dengan pengenceran masing-masing.

3. Cara Rearing Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Menurut penelitian (Prayudhy Yushanan, 2022) adalah sebagai berikut:

- a. Membiakan telur nyamuk *Aedes aegypti*
- b. Telur yang diperoleh selanjutnya ditetaskan dan dilakukan identifikasi larva nyamuk *Aedes aegypti* melalui bentuk sifon.
- c. Larva yang telah terseleksi selanjutnya dipelihara hingga dewasa dan bertelur
- d. Larva-larva tersebut diberi makan menggunakan pakan ikan yang dihaluskan, sedangkan pakan dewasa menggunakan darah marmot dan air gula.
- e. Kemudian menjadi pupa dan nyamuk dewasa
- f. Selanjutnya menetas telur-telur dari nyamuk dewasa hingga menjadi larva instar III.

4. Cara Melakukan Bioassay

Menurut (WHO, 2005) cara melakukan bioassay adalah sebagai berikut:

- a. Mula-mula jentik nyamuk dipaparkan berbagai konsentrasi uji dan kontrol untuk mengetahui rentang aktivitas dari bahan yang diuji.
- b. Setelah menentukan kematian larva dalam kisaran konsentrasi yang luas, kisaran yang lebih sempit digunakan untuk menentukan LC₅₀.
- c. Batch dari 25 larva instar III dipindahkan melalui saringan,
- d. Kemudian masukan kedalam cangkir (bejana) sekali pakai, masing-masing berisi 100-200 ml air.
- e. Kedalaman air dalam cangkir (bejana) harus tetap antara 5cm dan 10cm tingkat yang lebih dalam dapat menyebabkan kematian yang tidak semestinya.

I. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Pengolahan data menggunakan uji mortalitas. Uji mortalitas adalah ukuran jumlah kematian dari suatu populasi. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi mortalitas yaitu promortalitas dan antimortalitas.

Mortalitas kelompok perlakuan harus dikoreksi menurut rumus :

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{x-y}{x} 100$$

Keterangan :

x : Presentase kontrol yang tidak diberikan perlakuan

y : Presentase sampel yang diberikan perlakuan

2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah Two-way ANOVA. Two Way Anova disebut juga dengan Anova 2 Arah atau Analisis Varian 2 Faktor. ANOVA dua arah membandingkan perbedaan rata-rata antara kelompok yang telah dibagi pada dua variabel independen (disebut faktor). Dua variabel independen berskala data kategorik (dosis dan waktu) dan satu variabel terikat berskala data kuantitatif/numerik (interval atau rasio).

Two-way ANOVA (two-way ANOVA test) digunakan untuk pengujian statistik lebih dari dua sampel, dan two-way ANOVA digunakan untuk mengetahui ada tidaknya interaksi antara faktor-faktor yang akan diteliti. Pada dasarnya pengujian ini sama dengan pengujian lainnya dengan tujuan yang sama untuk mengetahui variasi dari setiap faktor, hanya langkah pengambilan hasil yang berbeda tergantung dari jumlah sampel dan uji statistik yang akan digunakan.