

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial untuk mengetahui kemampuan efek peningkatan kadar flavonoid dan saponin dari ekstrak daun pepaya (*Caricca papaya Linn*) dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial 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, 8gr/100ml, 10gr/100ml, 12gr/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 :

## 1. Blok Desain

**Tabel 3.1 Desain Variasi dan Dosis Daun Pepaya**

| X<br>Y | 1<br>0gr/100ml | 2<br>8gr/100ml | 3<br>10gr/100ml | 4<br>12gr/100ml |
|--------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| A      | A1             | A2             | A3              | A4              |
| B      | B1             | B2             | B3              | B4              |
| C      | C1             | C2             | C3              | C4              |
| D      | D1             | D2             | D3              | D4              |

## B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan Laboratorium Entomologi Balai Litbangkes Baturaja Sumatra Selatan dan untuk waktu penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2023.

## C. Subjek dan Sampel Penelitian

### 1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang di gunakan pada penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang berumur 3-4 hari setelah menetas, karena larva ini sudah berukuran cukup besar dan sangat mudah untuk di identifikasi sesuai dengan sampel yang digunakan pada standar WHO (Sumilih et al., 2010)

## 2. Sampel

Dalam penentuan terhadap sampel penulis menentukan jumlah sampel kadar flavanoid pada campuran ekstrak daun pepaya (*Caricca papaya Linn.*) 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 (Rangga, 2016) :

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

Keterangan :

n : jumlah sampel tiap kelompok

t : jumlah kelompok perlakuan = 16 perlakuan

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

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

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

$$15n - 15 \geq 15$$

$$15n \geq 30$$

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

$$n \geq 2$$

## **D. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak daun papaya (*Caricca papaya Linn*) 0gr/100ml, 8gr/100ml, 10gr/100ml, 12gr/100ml. Jumlah perlakuan yang digunakan sebanyak 32 perlakuan dengan 2 kali pengulangan dan jumlah total larva yang digunakan sebanyak 800 ekor.

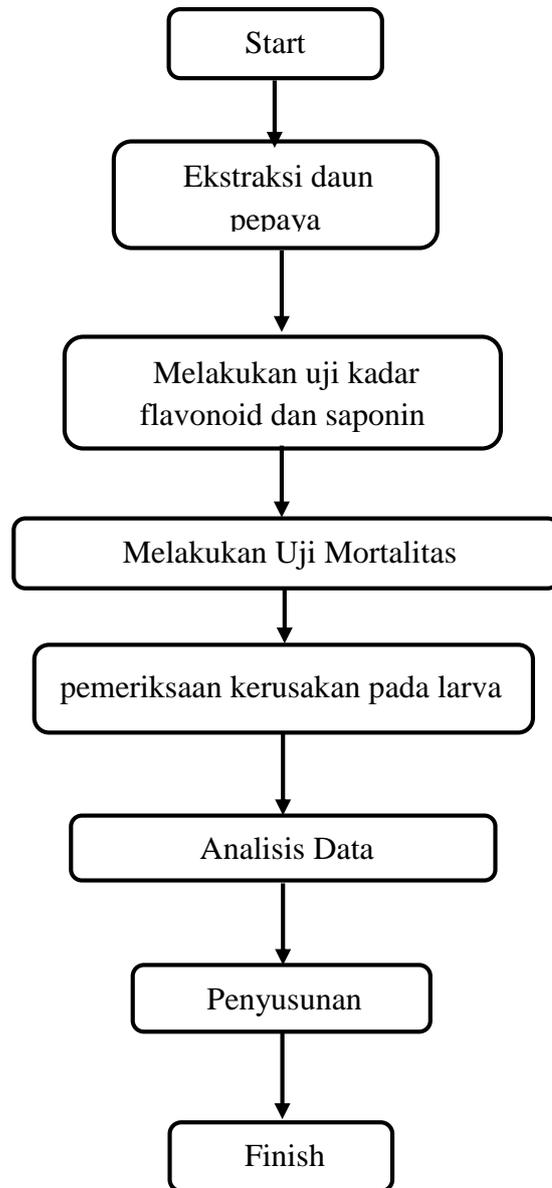
### **2. Variabel Terikat**

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

## **E. Pengumpulan Data**

Teknik pengambilan data yang di gunakan dalam penelitian ini adalah data primer berupa hasil dari pengamatan langsung dari peneliti terhadap jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang melakukan kontak langsung dengan objek penelitian dan data di kumpulkan dengan cara melakukan pengujian daun papaya (*Caricca papaya Linn*) yang di proses secara ekstraksi untuk melihat toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

## F. Skema Penelitian



Gambar 3.1

Skema Penelitian

Keterangan :

1. Pembuatan ekstrak daun papaya dengan tambahan pelarut etanol.
2. Melakukan percobaan yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui kadar flovonoid dan saponin daun papaya sebanyak 16 sampel dengan 2 kali pengulangan.
3. Setelah didapatkan hasil laboratorium kadar flovonoid dan saponin masing-masing bahan, lalu melakukan pengujian mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III.
4. Setelah melakukan pengujian mortalitas larva selanjutnya dilakukan pengecekan kerusakan bagian pernafasan dan pencernaan pada larva instar 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.

## **G. Tahap Penelitian**

### **1. Tahap Persiapan**

#### **a. Alat :**

- 1) Blender
- 2) Stopwatch
- 3) Elenmayer
- 4) Timbangan

- 5) Maserator
- 6) Mikroskop
- 7) Rotary evaporator
- 8) Kertas penyaringan
- 9) Pisau/gunting
- 10) Beaker glass
- 11) Pipet ukur
- 12) Pipet tetes
- 13) Batang pengaduk
- 14) Wadah telur nyamuk
- 15) Wadah plastic
- 16) Kotak pemeliharaan
- 17) Gelas ukur

b. Bahan :

- 1) Telur nyamuk *Aedes aegypti*.
- 2) Daun pepaya (*Caricca papaya linn*)
- 3) Etanol 96%
- 4) Aquades

**2. Pembuatan Ekstrak Daun Papaya (*Caricca papaya Linn*)**

Menurut penelitian (Rangga,2016.) cara pembuatan ekstrak daun pepaya (*Caricca papaya Linn*) adalah sebagai berikut:

- a. Daun pepaya (*Carica papaya Linn*) dipilih yang masih muda dan tidak terlalu tua.

- b. Daun dicuci bersih, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
- c. Setelah kering, ambil daun pepaya kemudian dirajang halus sehingga membentuk partikel yang lebih kecil (serbuk kering).
- d. Kemudian lakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 5x24 jam.
- e. Didapatkan filtrat dan ampasnya, kemudian filtratnya dikumpulkan
- f. Lakukan ekstraksi dengan sichler kemudian diamkan hingga mengental.

### **3. Cara Raering Larva Nyamuk *Aedes aegypti***

Menurut penelitian (Putri & Yushananta, 2022) :

- 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) 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.

## H. Pengolahan Data dan Analisis Data

### 1. Pengolahan Data

Pengolahan 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 sesuai 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 membandingkan rata-rata perbedaan antara kelompok yang dibagi pada dua variabel bebas (faktor). Diperlukan dua variabel independen pada skala data kategorikal dan satu variabel dependen pada skala data kuantitatif/numerik (periode atau rasio). Two-way ANOVA (two-way ANOVA test) digunakan untuk pengujian statistik lebih dari dua sampel, dan two-way ANOVA X - Y X 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.