

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen murni (*true eksperiment*) sedangkan untuk pelaksanaan penelitian menggunakan rancangan *post test only control group* yaitu suatu rancangan percobaan yang terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Perlakuan hanya diberikan kepada kelompok eksperimen (Kusumawati et al., 2018).

Menguji pengaruh untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* Instar III berdasarkan konsentrasi ekstrak dan waktu kontak. Variabel pada penelitian adalah konsentrasi ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dengan konsentrasi 0%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40% dan waktu kontak selama 2 jam (per 15 menit) sehingga diperoleh 6 variasi. Variasi perlakuan secara lengkap dapat dilihat sebagai berikut :

B. Subjek Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang di kembangkan di Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan.

2. Sampel Penelitian

Sampel adalah sebagian dari populasi yang dapat terhadap populasi di dalam penelitian ini digunakan sebanyak 20 ekor larva nyamuk berdasarkan WHO (2005). Larva nyamuk dimasukkan dalam 6 wadah. Tiap-tiap wadah berisi 20 ekor larva, sehingga total sampel sebanyak 480 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Untuk menghindari kesalahan sekecil mungkin, maka banyaknya ulangan dan perlakuan dalam eksperimen dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut : (Kusumawati et al, 2018).

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

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 20 \div 5$$

$$r \geq 4$$

$$r = 4$$

Keterangan :

r = jumlah replikasi / pengulangan

t = jumlah perlakuan = 6 variasi

15 = derajat kebebasan umum

Hasil perhitungan menggunakan rumus diatas, diperoleh banyaknya pengulangan adalah sebanyak 4 kali.

C. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjungkarang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan dilaksanakan pada bulan Maret-April tahun 2023.

D. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data primer digunakan dengan cara observasi yaitu pengamatan secara langsung pada uji coba experiment sesuai dengan prosedur yang terencana meliputi melihat dan mencatat jumlah ataupun aktivitas tertentu yang berkaitan dengan masalah yang diteliti, seperti pencatatan yang sistematis pada gejala-gejala yang tampak selama proses penelitian pada objek yang diteliti, yaitu mencatat jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang mati setelah diberi ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) pada konsentrasi yang berbeda dan lama waktu yang berjalan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (Independent variabel)

Variabel ini menggunakan konsentrasi daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) yaitu 0%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%.

1. Variabel terikat (Dependent variabel)

Variabel ini menggunakan jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang mati.

F. Tahap Penelitian

1. Persiapan penelitian

a. Alat dan Bahan

1) Alat

- a) Beaker glass
- b) Gelas ukur
- c) Neraca analitik
- d) Sendok
- e) Bulp
- f) Blender/penumbuk
- g) Saringan kain
- h) pH meter
- i) Water bath
- j) Alat tulis

2) Bahan

- a) Daun pandan wangi berwarna hijau tua
- b) Etanol 96% untuk mengeluarkan zat-zat aktif pada daun pandan wangi
- c) Aquades untuk mengencerkan konsentrasi
- d) Air keran untuk mencuci daun pandan wangi

b. Prosedur kerja pembuatan ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*)

- 1) Siapkan alat dan bahan
- 2) Potong kecil-kecil daun pandan wangi dengan memisahkan tulang daun
- 3) Kemudian cuci bersih daun pandan wangi menggunakan air mengalir
- 4) Kemudian dilakukan pengeringan daun pandan wangi untuk mengurangi air sisa cucian
- 5) Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari dan jangan sampai terkena paparan sinar matahari langsung, agar tidak mengurangi/menghilangkan kandungan dalam daun pandan wangi
- 6) Kemudian haluskan menggunakan blender, untuk daun pandan wangi yang diblender sebanyak 20 gram dan diblender dengan kecepatan 3 , hasil yang didapatkan adalah 15 gram serbuk daun pandan wangi dengan waktu pemblenderan selama 2 menit 30 detik
- 7) Serbuk daun pandan wangi yang telah diblender kemudian dimasukkan kedalam wadah

- 8) Setelah itu timbang hasil blender tersebut sebanyak 1000 gram kemudian maserasi dengan 3.000 ml atau 3L etanol 96% atau perbandingan 1:3 (serbuk+pelarut)
- 9) Maserasi dilakukan selama 72 jam, pada suhu 20-27°C, tersimpan dalam wadah tertutup dan terlindungi dari cahaya langsung bertujuan untuk mencegah reaksi katalisis cahaya atau perubahan warna
- 10) Kemudian, saring hasil rendaman maserasi menggunakan saringan kain untuk memisahkan padatan
- 11) Untuk pemekatan ekstrak, diuapkan hasil penyaringan tersebut menggunakan waterbath dengan suhu 60°C selama 1 jam. Penggunaan pemanas dengan ditunjukkan untuk menghilangkan atau menguapkan pelarut yang tersisa pada ekstrak
- 12) Setelah diwaterbath ekstrak daun pandan wangi akan menyusut dari 1000 ml menjadi 950 ml
- 13) Kemudian ekstrak yang diperoleh dimasukan kedalam wadah/botol
- 14) Hasil ekstrak daun pandan wangi yang telah kental kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan
- 15) Lalu tentukan konsentrasi ekstrak daun pandan wangi yang akan digunakan. Konsentrasi tersebut 0%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40%
- 16) Volume ekstrak yang dibutuhkan

Volume ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan berbagai macam konsentrasi yang diperlukan dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M_1 = Konsentrasi ekstrak daun sirih yang tersedia (%)

V_2 = Volume larutan (aquadest+ekstrak) yang diinginkan (ml)

M_2 = Konsentrasi ekstrak daun sirih yang akan dibuat (%)

Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi perlakuan : 0%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40%. Dilakukan dengan 100 ml aquadest.

1) Konsentrasi 0%

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 0$$

$$V_1 = \frac{0}{100}$$

$$V_1 = 0 \text{ ml}$$

Jadi, pada konsentrasi 0% tidak menggunakan larutan ekstrak daun pandan wangi .

2) Konsentrasi 20%

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 20$$

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

$$V_1 = 20 \text{ ml}$$

Jadi, 20 ml larutan ekstrak daun pandan wangi dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 80 ml.

3) Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 25$$

$$V_1 = \frac{2500}{100}$$

$$V_1 = 25 \text{ ml}$$

Jadi, 25 ml larutan ekstrak daun pandan wangi dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 75 ml.

4) Konsentrasi 30%

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 30$$

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

$$V_1 = 30 \text{ ml}$$

Jadi, 30 ml larutan ekstrak daun pandan wangi dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 70 ml.

5) Konsentrasi 35%

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 35$$

$$V_1 = \frac{3500}{100}$$

$$V_1 = 35 \text{ ml}$$

Jadi, 35 ml larutan ekstrak daun pandan wangi dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 65 ml.

6) Konsentrasi 40%

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 40$$

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

$$V_1 = 40 \text{ ml}$$

Jadi, 40 ml larutan ekstrak daun pandan wangi dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 60 ml.

c. Prosedur pengiriman telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III

- 1) Telur larva nyamuk *Aedes aegypti* dikirimkan dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan
- 2) Dengan SOP pengiriman telur nyamuk *Aedes aegypti*
- 3) Pemesanan telur nyamuk *Aedes aegypti* minimal 2000 butir
- 4) Telur larva nyamuk *Aedes aegypti* dikirimkan dalam media tempat penyimpanan telur *Aedes aegypti* yang diletakkan di permukaan kertas yang kering dilapisi plastik dan ditutup dengan kertas kopi
- 5) Pengiriman dari Batu Raja ke Bandar Lampung selama 4 hari
- 6) Setelah sampai selanjutnya peneliti melakukan penetas telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III
- 7) Telur dapat bertahan berbulan-bulan pada suhu 20°C – 42°C dalam keadaan kering.

d. Prosedur kerja penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III

- 1) Populasi dalam penelitian ini adalah semua larva yang di kembangkan dari telur dan didapatkan dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan
- 2) Sampel diambil dengan teknik *purposive sampling*, yaitu metode pemilihan sampel berdasarkan sifat atau ciri-ciri tertentu yang berkaitan dengan karakteristik populasi, yaitu: Pada sampel ini diambil larva instar III dengan pertimbangan alat organ larva sudah lengkap
- 3) Media tempat penyimpanan telur *Aedes aegypti* diletakkan di permukaan kertas yang kering
- 4) Telur yang akan ditetaskan menjadi larva, diletakkan dalam sebuah wadah yang berisi air bersih dengan suhu kamar 20-27°C dan ditutup menggunakan kain kasa
- 5) Telur yang ditetaskan dalam sebuah wadah berisi air bersih akan tenggelam
- 6) Setelah telur diletakkan di wadah yang berisi air, waktu yang dibutuhkan untuk perkembangan telur menjadi instar I terjadi selama 1-2 hari
- 7) Larva yang menetas diberi makan fish food setiap hari sampai larva siap digunakan untuk penelitian
- 8) Kemudian instar I menjadi instar II berlangsung selama 2-3 hari
- 9) Lalu instar II menjadi instar III berlangsung selama 2-3 hari

- 10) Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ini yang digunakan dalam penelitian penulis
- 11) Lama siklus hidup telur menjadi larva instar III yaitu 8 hari
- 12) Kemudian lama siklus hidup untuk telur menjadi nyamuk dewasa yaitu 15 hari
- 13) Namun lama siklus hidup berkembang biak nyamuk tergantung pada beberapa faktor seperti suhu.

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Alat dan Bahan

1) Alat

- a) Beaker glass / gelas plastik
- b) Stopwatch
- c) pH meter
- d) Alat tulis dan buku tulis
- e) Sendok







2) Bahan

- a) Ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dengan konsentrasi 0%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% dan Aquades
- b) Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

b. Prosedur kerja pembuatan larutan

- 1) Siapkan beaker glass/gelas plastik yang akan digunakan untuk diisi masing-masing 100 ml air (aquades dan ekstrak)

Tabel 3.1
Masing –masing beaker glass berisi 100 ml air

No.	Waktu Kontak	Kosentrasi Ekstrak Daun Pandan Wangi					
		0%	20%	25%	30%	35%	40%
1.	2 jam (per 15 menit)						

2) Isi takaran beaker glass tersebut menggunakan aquades dan ekstrak

daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*)

- a) Untuk 0% tambahkan 0 ml ekstrak daun pandan wangi dan 100 ml aquades
- b) Untuk 20% tambahkan 20 ml ekstrak daun pandan wangi dan 80 ml aquades
- c) Untuk 25% tambahkan 25 ml ekstrak daun pandan wangi dan 75 ml aquades
- d) Untuk 30% tambahkan 30 ml ekstrak daun pandan wangi dan 70 ml aquades
- e) Untuk 35% tambahkan 35 ml ekstrak daun pandan wangi dan 65 ml aquades
- f) Untuk 40% tambahkan 40 ml ekstrak daun pandan wangi dan 60 ml aquades

3) Masukkan aquades terlebih dahulu kedalam masing-masing beaker glass

- 4) Masukkan 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ke dalam masing-masing beaker glass/ gelas plastik menggunakan sendok, pastikan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III masih bergerak/masih hidup
- 5) Kemudian siapkan semua konsentrasi ekstrak daun pandan wangi dan masukkan ekstrak bersamaan kedalam masing-masing beaker glass
- 6) Waktu pengamatan dihitung dari mulai ekstrak dimasukkan kedalam masing-masing beaker glass
- 7) Ukur suhu dan pH pada beaker glass/ gelas plastik, dalam variabel kendali ini harus benar-benar diperhatikan agar tidak menimbulkan potensi kekeliruan dan hasil yang berbeda
- 8) Setelah itu amati dan catat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, ciri-ciri larva yang mati dapat ditandai dengan larva yang tidak bergerak lagi dan ditemukan dalam keadaan tubuh yang mengapung di permukaan ekstrak, waktu pengamatan selama 2 jam (per 15 menit)
- 9) Lakukan pengulangan sebanyak 4x dan hitung rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III
- 10) Ekstrak daun pandan wangi yang terpakai sebanyak 600 ml
- 11) Dalam melakukan penelitian dapat dibantu oleh rekan yang ahli dalam bidang kesehatan lingkungan atau dalam bidang penelitian ini.

G. Pengolahan dan Analisis Data

Berikut pengolahan data dan analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini :

1. Pengolahan Data

- a. *Editing* yaitu adalah mengkoreksi kembali data sedemikian rupa sehingga diperoleh data yang sebenarnya. Data atau informasi yang dikumpulkan dalam buku catatan harus dibaca kembali, jika masih ada hal-hal yang tidak benar atau meragukan di dalamnya, harus diperbaiki.
- b. *Tabulating* yaitu data yang diperoleh dari pengamatan dikelompokkan kemudian dibuat menjadi tabel/grafik.

2. Analisa Data

- a. Analisa univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah diberikan ekstrak daun pandan wangi wangi (*Pandanus amaryllifolius*).
- b. Analisa bivariat analisis yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh masing-masing variabel bebas (*Independent*) terhadap variabel terikat (*Dependent*). Teknik analisis yang digunakan yaitu dengan uji statistik, analisis regresi linier.