

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas penelitian ini adalah ekstraksi etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*), variabel terikat penelitian ini adalah larva instar III nyamuk *Aedes aegypt*, serta variabel terkontrol yaitu suhu dan pH pada media perlakuan.

B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan Laboratorium Biologi FMIPA Unila.

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada Februari 2024.

C. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*), kemudian dilakukan ekstraksi lalu diambil ekstrak etanolnya setelah itu diencerkan dalam konsentrasi 11%, 12%, 13%, 14% dan 15%.

1. Kriteria Kulit Pisang Kepok

Kulit pisang yang digunakan adalah limbah kulit pisang kapok varietas (*Musa paradisiaca L.*) berwarna hijau, segar, tidak ada indikasi busuk yang ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat, dan sudah dibersihkan dari kotoran seperti getahnya.

2. Kriteria Larva Instar III Nyamuk *Aedes aegypti*

Larva *Aedes aegypti* yang digunakan dibeli dalam bentuk telur di Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Baturaja, Sumatera Selatan yang nantinya dibudidayakan sampai menjadi larva instar III selama kurang lebih 3-4 hari dengan pemberian pakan ikan. Sampel dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dengan ciri-ciri memiliki ukuran 5 mm, duri-duri (spinae) pada dada mulai jelas, corong pernafasan berwarna coklat kehitaman, memiliki sifon yang gemuk, gigi sisir pada segmen ke delapan, dan mengalami pergantian kulit.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 25 ekor disetiap konsentrasi dengan 5 kali pengulangan berdasarkan rumus Federer, yaitu :

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

Keterangan :
t : Perlakuan
n : Pengulangan

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

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

$$(4) (n-1) \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

D. Variabel Penelitian

Variabel adalah karakteristik dari orang, objek, atau kejadian itu. Dalam penelitian ini yang menjadi variabel adalah:

1. Variabel Dependen (Variabel Terikat/Variabel Tergantung)

Variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel independen, artinya variabel dependen berubah karena disebabkan oleh perubahan pada variabel independen (Masturoh; Anggita. 2018). Variabel terikat/dependen pada penelitian ini yaitu larva nyamuk *Aedes Aegypti* dapat terbunuh.

2. Variabel Independen (Variabel Bebas)

Variabel independen adalah variabel yang dapat mempengaruhi variabel lain, apabila variabel independen berubah maka dapat menyebabkan variabel lain berubah (Masturoh; Anggita. 2018). Variabel independen pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) dengan konsentrasi 11%, 12%, 13%, 14%, dan 15%.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat (Priyatno, 2009). Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu suhu dan pH pada media perlakuan.

E. Definisi Operasional

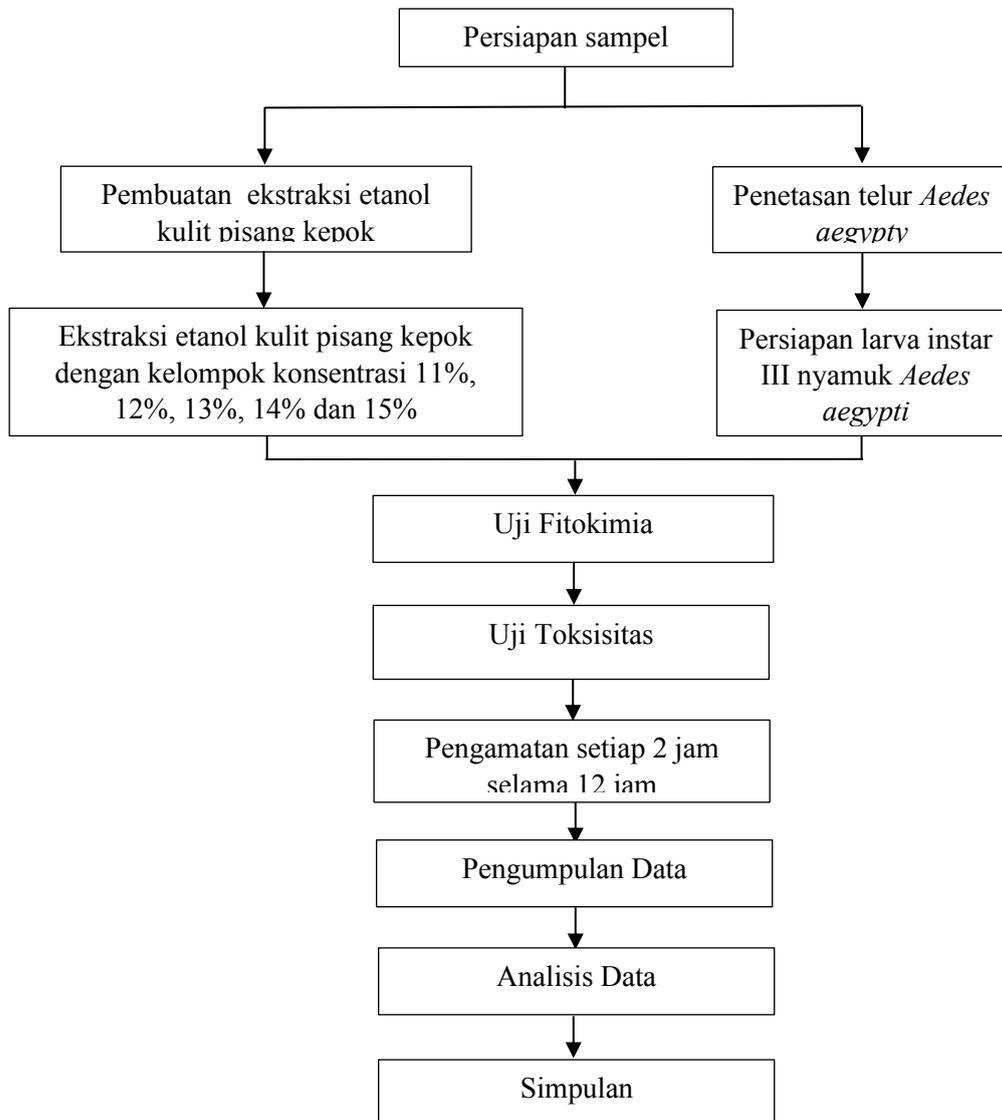
Tabel 3.1 Tabel Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Metode	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
1.	Konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok (<i>Musa Paradisiaca L.</i>)	kulit pisang kepok (<i>Musa Paradisiaca L.</i>) dengan kriteria berwarna hijau, segar, dan sudah dibersihkan yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol	Ekstraksi	Botol reagen, corong gelas, corong pisah, Erlenmeyer, dan kertas saring	Persen (%)	Rasio
2.	Kematian larva <i>Aedes aegypti</i>	Jumlah larva instar III nyamuk <i>Aedes aegypti</i> dengan ciri-ciri memiliki ukuran 4-5 mm, memiliki sifon yang gemuk, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman, gigi sisir pada segmen abdomen ke-8 mengalami pergantian kulit dan berlangsung 3-4 hari yang tidak menunjukkan pergerakan	Mengamati morfologi larva <i>Aedes aegypti</i>	Visual secara mikroskopis	Jumlah kematian larva instar III nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Ordinal
3.	Suhu	Derajat panas pada masing-masing blok sampel	Pengukuran	Thermometer	Derajat celcius 28-30 (°C)	Rasio

4.	pH	Tingkat keasaman pada masing-masing blok sampel	Pengukuran	Ph meter	Netral (7)	Interval
----	----	---	------------	----------	------------	----------

F. Pengumpulan Data

1. Alur Penelitian



Tabel 3 2 Alur Penelitian

2. Prosedur Penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian dari Poltekkes Tanjungkarang.
- b. Uji Determinasi kulit pisang kepok ke Laboratorium Biologi FMIPA

Unila.

- c. Pembuatan simplisia dengan menyiapkan kulit pisang kepok yang sesuai, kemudian kulit pisang kepok dicuci lalu dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau ditutup dengan kain hitam hingga kering.
- d. Pembuatan ekstrak kulit pisang kepok di Laboratorium Biologi FMIPA Unila.
- e. Pembuatan konsentrasi bahan uji ekstraksi etanol kulit pisang kepok 100% yang sudah dievaporasi lalu diencerkan menjadi konsentrasi 11%, 12%, 13%, 14%, dan 15%.
- f. Penyediaan sampel larva dengan melakukan penetasan telur nyamuk *Aedes Aegypti* menjadi larva kemudian ditunggu hingga berkembang menjadi larva instar III.
- g. Uji identifikasi larva nyamuk yang telah menetas dilakukan di Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Tanjungkarang.
- h. Uji efektivitas ekstraksi etanol kulit pisang kepok dengan konsentrasi 11%-15% dengan kontrol negatif aquadest dan kontrol positif berupa abate 0,01%.
- i. Data yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva *Aedes Aegypti* yang mati di setiap gelas plastik. Perhitungan larva yang mati dilakukan setiap 2 jam selama 12 jam pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*).
- j. Analisis data dengan menggunakan SPSS.

3. Cara Kerja

a. Uji determinasi kulit pisang kepok.

Uji determinasi adalah uji untuk mengetahui kebenaran identitas spesies tersebut apakah sesuai dengan identitas yang diinginkan, dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Lampung.

b. Pembuatan Simplisia

1) Alat

- a) Kain hitam
- b) Oven
- c) Pisau

2) Bahan

- a) Kulit pisang kepok

3) Prosedur

- a) Kulit pisang kepok yang berwarna hijau dikumpulkan sebanyak 3 kg.
- b) Kemudian dicuci dengan air mengalir untuk dihilangkan kotorannya dan tiriskan.
- c) Selanjutnya dipotong kecil-kecil kurang lebih 0,5 cm x 0,5 cm dan keringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau ditutup dengan kain hitam hingga kering.
- d) Simplisia yang telah kering kemudian dioven sebentar untuk memastikan agar tidak ada bagian yang masih lembab.
- e) Simplisia yang telah kering lalu diserbuk dan disimpan

dalam wadah kering.

c. Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok Metode Ekstraksi

1) Alat

- a) 5 gelas ukur 2000ml.
- b) Pengaduk
- c) Kertas saring (maserat)
- d) Evaporator

2) Bahan

- a) Simplisia
- b) 5 liter Etanol 96%

3) Prosedur

- a) Simplisia kulit pisang kepok ditimbang sebanyak 100 gram, lalu dimasukkan ke dalam masing-masing gelas ukur.
- b) Kemudian tuangkan 2000ml etanol 96% pada masing-masing gelas ukur.
- c) Diamkan selama lima hari dengan pengadukan selama 6 jam sekali setiap hari.
- d) Lalu pisahkan antara endapan dan filtratnya dengan kertas saring (maserat).
- e) Kemudian diuapkan menggunakan evaporator hingga ekstrak kental, setelah itu ekstrak diuapkan kembali dengan suhu maksimal 60°C
- f) Ekstrak disimpan pada wadah berbahan gelas yang steril,

bersih, dan kering (Manu, 2013).

- g) Selanjutnya ekstrak diencerkan dengan varian konsentrasi 11%, 12%, 13%, 14%, dan 15% menggunakan aquadest dengan rumus pengenceran:

$$V1 \times \%1 = V2 \times \%2$$

Keterangan:

V1 = Volume larutan uji yang dipipet (ml)

%1 = Konsentrasi larutan uji (100%)

V2 = Volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest (ml)

%2 = Konsentrasi yang akan dibuat (%)

d. Penyediaan Larva *Aedes aegypti*

Telur nyamuk *Aedes Aegypti* diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Baturaja, Sumatera Selatan. Telur diletakkan dalam wadah nampan plastik yang berisi air bersih. Telur menetas menjadi larva, dan diberi pelet sebagai makanannya, dalam 2 hari menjadi larva instar I, kemudian larva instar I berubah menjadi larva instar II dalam 3 hari setelahnya, dan menjadi larva instar III dalam 2 hari setelahnya.

- 1) Uji identifikasi larva, dengan cara:

Salah satu larva diletakkan pada objek glass lalu ditutup dengan deck glass dan diperiksa di bawah mikroskop perbesaran 4 x 10

- 2) Ciri-ciri larva instar III nyamuk *Aedes Aegypti* :

Duri torax yang mulai terlihat jelas dengan warna siphon coklat

kehitaman dan pergerakan sangat efektif pada media air.

e. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam kulit pisang kepok setelah dilakukannya ekstraksi, dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Lampung.

f. Uji Efektivitas

1) Alat

- a) 7 gelas plastik
- b) Pipet ukur

2) Bahan

- a) Ekstrak etanol kulit pisang kepok
- b) Aquadest
- c) Abate

3) Prosedur

- a) Menyiapkan 5 gelas plastik tak bertutup diisi 50ml ekstrak etanol kulit pisang kepok yang telah dilarutkan dengan aquadest dengan konsentrasi yang berbeda-beda.
- b) Membuat kontrol negatif dengan mengisi satu gelas plastik menggunakan 50ml aquadest.
- c) Membuat kontrol positif dengan mengisi satu gelas ukur menggunakan 0,01 gram bubuk abate dalam 50ml aquadest.
- d) Mengambil sebanyak 25 ekor larva instar III *Aedes aegypti* dan dipindahkan ke masing- masing gelas plastik yang berisi ekstrak etanol kulit pisang kepok yang telah

diencerkan pada setiap konsentrasi.

- e) Dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah kematian larva *Aedes aegypti* dengan waktu pengamatan setiap 2 jam selama 12 jam.
- f) Prosedur di atas diulang sebanyak 5 kali.

G. Pengolahan dan Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan aplikasi SPSS menggunakan Uji Anova untuk menentukan hubungan pelarut dengan jumlah kematian larva. Selanjutnya untuk menentukan konsentrasi yang paling efektif menggunakan LC90 dan waktu yang paling efektif menggunakan LT90 bahan uji yang dapat memberantas stadium infeksi penyebab DBD dihitung dengan menggunakan program komputer SPSS Analisa Probit.