

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental menggunakan rancangan design (RAL) untuk mengetahui kemampuan efek peningkatan kadar flavonoid dari variasi campuran ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dan dalam membunuh larva nyamuk *Ae. aegypti*.

Penelitian yang dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan faktorial yang merupakan eksperimen menggunakan dari satu perlakuan atau lebih dari satu variabel bebas, rancangan lengkap faktorial digunakan apabila terdiri atas dua faktor atau lebih dengan menggunakan kombinasi antar level (Herdianto, 2013). Blok sampel yang digunakan randomized sampling yang terdiri dari 3 level konsentrasi dengan 3 bahan yang digunakan sehingga jumlah variasi yang didapatkan yaitu 27 kombinasi, secara lengkap variasi perlakuan adalah sebagai berikut :

#### 1. Blok Desain

*Tabel 3.1 Blok Desain Konsentrasi Daun Sirsak dan Daun Mengkudu*

Konsentrasi Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> )	Konsentrasi Daun Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> )		
	K1 0%	K2 50%	K3 100%
J1 0%	0%.0%	50%.0%	100%.0%
J2 50%	0%.50%	50%.50%	100%.50%
J3 100%	0%.100%	50%.100%	100%.100%

*Sumber : Data penelitian,2021*

*K0/J0 : Kontrol*

## 2. Uji Performa

Semakin tinggi kadar flavonoid semakin tinggi daya racun dan semakin banyak larva nyamuk *Aedes Aegypti* yang mati.

## B. Subjek Penelitian

### 1. Populasi

Populasi adalah seluruh objek atau subjek dengan karakteristik tertentu yang akan diteliti, bukan hanya subjek atau objek saja yang dipelajari tetapi seluruh karakteristik atau sifat yang dimiliki objek dan subjek tersebut, atau kumpulan individu, orang, maupun objek yang akan diteliti sifat-sifat atau karakteristiknya (Hidayat, 2017). Populasi di dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid dan larva *Aedes aegypti*.

### 2. Sampel

Dalam penentuan terhadap sampel penulis menentukan jumlah sampel kadar flavanoid pada campuran ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) serta variasi pengencer dengan 3 kali pengulangan.

Besar sampel 3 kali pengulangan sebanyak 27 sampel yang akan di uji cobakan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung dan Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan Program Studi Diploma III sanitasi Lingkungan. Banyaknya replikasi/perlakuan setiap perlakuan di cari menggunakan rumus federer sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 16$$

$$(n-1)(9-1) \geq 16$$

$$(n-1)(8) \geq 16$$

$$8n - 8 \geq 16$$

$$8n \geq 16 + 8$$

$$n \geq \frac{16+8}{8} = 3$$

Keterangan :

*n* : Pengulangan / replication

*t* : Jumlah kelompok perlakuan

### **C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### **1. Lokasi Penelitian**

Lokasi penelitian dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung dan Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan Program Studi Diploma III sanitasi Lingkungan.

#### **2. Waktu Penelitian**

Waktu penelitian di laksanakan pada bulan Februari 2022 sampai Mei 2022.

### **D. Variasi Penelitian**

#### **1. Variable Bebas**

Variable bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) 0%,50%,100% dan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) sebanyak 100%, 50 %, 0%.

#### **2. Variable Terikat**

Variable terikat adalah variable yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variable bebas. Variable terikat dalam penelitian ini adalah

mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti* pada stadium larva instar III.

### 3. Variable Kontrol

Variable kontrol dalam penelitian ini adalah batas waktu yang dipergunakan untuk menentukan mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* setiap 1 X permenit sampai 50% kematian, stadium larva, air (aquades), suhu kamar, dan wadah larva.

### E. Cara Rearing Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Langkah kerja rearing larva untuk mempersiapkan larva nyamuk *Ae. aegypti* sebagai indikator uji. Telur dibeli di Loka Litbang Jawa Barat.

- 1) Untuk mendapatkan larva nyamuk *Ae. aegypti* dilakukan dengan cara meneteskan telur nyamuk *Ae. aegypti*.
- 2) Letakkan telur nyamuk *Ae. aegypti* di wadah yang berisi air, telur akan menetas 1 – 2 hari setelah terendam air.
- 3) Sekitar 2-3 hari setelah nyamuk menetas menjadi larva maka akan terlihat jelas larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*.
- 4) Selama nyamuk menjadi larva, larva-larva tersebut beri makan darah marmut (untuk yang betina) dan air gula (untuk yang jantan).
- 5) Larva nyamuk instar III, yang akan di gunakan dalam pengujian terhadap ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dan daun sirsak (*Annona muricata L.*) sesuai dengan konsentrasi yang telah di tentukan dalam penelitian.

## F. Pengumpulan Data

### 1. Teknik Pengumpulan Data

*Tabel 3.2 Teknik Pengumpulan Data*

No	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1	Kemampuan ekstrak daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) setelah pemberian perlakuan ke larva.	Observasi pengamatan. Alat ukur Tally counter. Pemberian perlakuan larva dianggap mati bila tidak ada tanda – tanda kehidupan.
2	Kemampuan ekstrak daun mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> ) setelah pemberian perlakuan ke larva.	Observasi pengamatan. Alat ukur Tally counter. Pemberian perlakuan larva dianggap mati bila tidak ada tanda – tanda kehidupan.
3	Kemampuan daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan ekstrak daun mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> ) setelah pemberian perlakuan ke larva.	Observasi pengamatan. Alat ukur Tally counter. Pemberian perlakuan larva dianggap mati bila tidak ada tanda – tanda kehidupan.

### 2. Tahap Penelitian

#### a. Tahap Persiapan

1) Alat :

- a) Kotak pemeliharaan .
- b) Wadah telur nyamuk .
- c) Wadah plastik .
- d) Beaker glass.
- e) Pipet ukur.
- f) Erlenmeyer.
- g) Pipet tetes.
- h) Kertas saringan.

- i) Stopwatch.
  - j) Timbangan.
  - k) Blander/Penumbuk.
  - l) Lemari pengering
  - m) Kertas perkamen
  - n) Maserator
  - o) Pengaduk
  - p) Rotary evaporator
  - q) Botol plastic
- 2) Bahan :
- a) Telur nyamuk *Aedes aegypti*.
  - b) Daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) .
  - c) Daun sirsak (*Annona muricata L.*) .
  - d) Etanol.
  - e) Abate (Kontrol Positif).

**b. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*)**

Menurut penelitian Elizabeth Ivana (2017, ז'רזזה סארמאגו, 2017) :

- 1) Mencuci, meniriskan, dan menimbang daun sirsak (*Annona muricata L.*) seberat 250 gram.
- 2) Memasukkan daun sirsak (*Annona muricata L.*) ke dalam lemari pengering selama  $\pm 5$  hari sampai benar-benar kering dan menjadi simplisia seberat 150 gram.

- 3) Menghaluskan simplisia seberat 150 gram daun sirsak (*Annona muricata L.*) dengan blender sampai menjadi serbuk.
- 4) Merendam serbuk simplisia daun sirsak (*Annona muricata L.*) dalam etanol 96% sebagai pelarut selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk.
- 5) Mendinginkan selama 18 jam.
- 6) Menyaring maserat.
- 7) Mengulangi penyaringan minimal satu kali dengan etanol 96% sebanyak setengah kali volume pelarut pada penyaringan pertama.
- 8) Memasukkan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) tersebut ke dalam rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental.
- 9) Menyimpan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) di dalam botol plastik.

**c. Pembuatan Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)**

Menurut penelitian (Nisa et al., 2015) ekstraksi daun mengkudu yaitu:

- 1) Ambil daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) lalu cuci bersih.
- 2) Setelah itu tiriskan dan timbang daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) seberat 250 gram.
- 3) Kemudian masukkan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) ke dalam lemari pengering selama  $\pm 5$  hari sampai benar-benar kering dan menjadi simplisia seberat 150 gram.
- 4) Lalu haluskan simplisia daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) seberat 150 gram dengan blender sampai menjadi serbuk.

- 5) Setelah itu bahan direndam dengan ethanol 96% selama 3 hari dengan ketentuan setiap 24 jam diaduk dan hasil perendaman disaring dengan kertas saring.
- 6) Setelah selesai masukkan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) tersebut ke dalam rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental.
- 7) Kemudian simpan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) di dalam botol plastik.

**d. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)**

- 1) Memipet 0,5 ml ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dimasukkan kedalam beaker glass.
- 2) Memipet 0,5 ml ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dimasukkan kedalam beaker glass.
- 3) Menambahkan aquades 9 ml, mengaduk sampai tercampur sempurna.

**e. Prosedur Kerja**

**1) Penentuan Kandungan Flavanoid Total**

Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan dalam mL methanol, di ambil 1 mL kemudian 10%, 0,2 mL kalium asetat, 5,6 mL aquabedasilata, simpan 30 menit pada tempat gelap dengan suasana suhu kamar, absorbansinya di ukur pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Kadar flavonoid total dinyatakan dalam gram rutin equivalen (RE) (Chang et al, 2002).

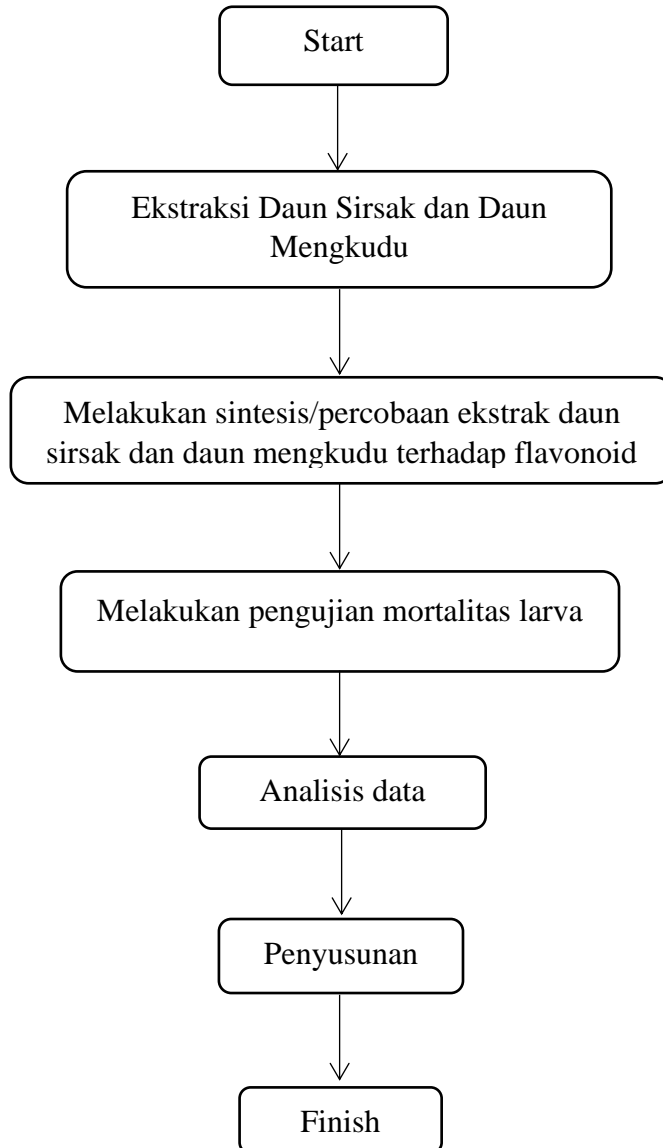


## 2) Uji Mortalitas jentik

Menurut Latifah (2016:44) prosedur penelitian untuk melakukan penelitian sebagai berikut :

- a) Mengisi 27 gelas dengan air sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur.
- b) Memasukan secara perlahan 20 ekor larva uji kedalam masing- masing container.
- c) Memasukkan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dan daun sirsak (*Annona muricata L.*) dengan konsentrasi 5%, yang berisi 100 ml air dan sebagai kontrol tidak diberi ekstrak.
- d) Tutup kontainer dengan menggunakan kain kasa.
- e) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya.
- f) Mencatat jumlah larva yang mati di mulai waktu 1 menit, 2 menit, 3 menit, 4 menit, 5 menit, 6 menit, 7 menit dan seterusnya sampai di dapatkan 50% kematian larva *Aedes Aegypti*.

## G. Alur Penelitian



**Gambar 3.1**  
**Alur Penelitian**

**Keterangan:**

1. Pembuatan ekstrak daun sisak dan daun mengkudu dengan tambahan pelarut etanol.
2. Melakukan sintesis/percobaan dilakukan di laboratorium untuk mengetahui dan membandingkan kadar flavonoid ekstrak daun sirsak, daun mengkudu, dan campuran ekstrak daun sirsak dan daun mengkudu sebanyak 9 sampel dengan 3 kali pengulangan
3. Setelah didapatkan hasil laboratorium kadar flavonoid masing-masing bahan, lalu melakukan pengujian mortalitas jentik *Aedes aegypti* instar III. Pengujian dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan mortalitas jentik untuk mendapatkan  $LD_{50}$
4. Analisis data diperoleh kemudian diolah dan dianalisa, data yang terdiri dari banyak variabel, dan diduga antar variabel tersebut saling berhubungan atau berpengaruh satu sama lain.
5. Penyusunan laporan dilakukan setelah melakukan penelitian. Penyusunan laporan dibuat dengan sebaik mungkin supaya pembaca mudah memahaminya.

**H. Pengolahan Data dan Analisis Data****1. Pengolahan Data****a. Coding**

Coding adalah mengubah data berupa kalimat/karakter menjadi data angka atau numerik.

**b. Editing**

Sebelum data dapat diolah, data tersebut harus diedit terlebih dahulu. Data atau informasi yang terkumpul dalam logbook harus dibaca kembali, jika masih ada yang salah atau meragukan harus diperbaiki.

### **c. Claning**

Semua data dari masing-masing sumber data harus diperiksa kembali seperti yang dimasukkan untuk kemungkinan kesalahan kode, data yang tidak lengkap, dll, dan kemudian dilakukan koreksi atau koreksi.

### **d. Tabulating**

Masukkan data ke dalam tabel, dan atur angkanya sehingga jumlah kasus dalam kategori yang berbeda dapat dihitung.

## **2. Analisis Data**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis bivariat karena penelitian ini dilakukan pada dua variabel yang diyakini berhubungan atau berkorelasi (Notoadmodio, 2014). Analisis digunakan untuk mengetahui perbedaan hubungan antara masing-masing variabel independen dan variabel dependen, dan ANOVA dua arah digunakan untuk menganalisis data.

ANOVA dua arah membandingkan rata-rata perbedaan antara kelompok yang dibagi pada dua variabel bebas (disebut 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 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 varians dari setiap faktor, hanya langkah pengambilan hasil yang berbeda tergantung dari jumlah sampel dan uji statistik yang akan digunakan.