

## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian ini adalah eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas adalah ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum L*) dan variabel terikat adalah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.

### B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

#### 1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Politeknik Kesehatan TanjungKarang Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium FMIPA Biologi Universitas Lampung .

#### 2. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan April - Juni 2022

### C. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah bawang putih tunggal (*Allium sativum L*) kemudian dibuat ekstrak lalu diencerkan dalam konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5% Larva *Aedes aegypti* yang digunakan adalah hasil penetasan telur yang diperoleh dari Balai Litbang Kesehatan Baturaja.

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 dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

No	Variable	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
1	Variabel bebas: konsentrasi ekstrak bawang putih tunggal ( <i>Allium sativum L</i> )	Bawang putih tunggal yang di ekstrak menggunakan etanol 96% dan diencerkan dengan konsentrasi 0,5% ,1%, 1,5% ,2% ,dan 2,5%	Dengan metode maserasi	Botol reagen, corong gelas, erlenmeyer , batang pengaduk dan kertas saring.	Persen (%)	Rasio
2	Variabel bebas: Abate ( <i>temephos</i> )	Larvasida nyamuk <i>Aedes aegypti</i> yang digunakan dengan konsentrasi 0,01%	Ditimbang	Neraca	Persen (%)	Rasio
3	Variabel terikat: kematian larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Jumlah larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> yang tidak menunjukkan pergerakan atau mati	Mengamati jumlah larva yang mati tiap 2 jam sekali selama 12 jam disetiap konsentrasi	Visual	Jumlah kematian larva instar III nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Rasio

## E. Teknik Pengumpulan Data

### 1. Prosedur penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian dari Poltekkes Tanjungkarang  
Pembuatan surat izin pemesanan telur di Balai Litbang Kesehatan Baturaja dari Poltekkes Tanjungkarang

- b. Identifikasi bahan uji yaitu tumbuhan bawang putih tunggal di Laboratorium FMIPA Biologi Universitas Lampung
- c. Pembuatan simplisia dengan menyiapkan bawang putih tunggal, kemudian bawang putih tunggal dicuci lalu dijemur dibawah sinar matahari secara tidak langsung atau ditutup dengan kain hitam hingga kering. Hasil pengeringan ini disebut simplisia
- d. Pembuatan ekstrak bawang putih tunggal di Laboratorium FMIPA Biologi Universitas Lampung dengan proses pengekstraksian 1 kg simplisia bawang putih tunggal dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol.
  - 1) Simplisia kering bawang putih tunggal di blender hingga halus.
  - 2) Dimasukkan 1 kg simplisia yang telah halus ke dalam sebuah bejana, ditambahkan larutan etanol 96% hingga simplisia terendam etanol, dan didiamkan selama 5 hari terlindung cahaya matahari dengan pengadukan setiap hari, kemudian dipisahkan antara endapan dan filtratnya dengan kertas saring (maserat 1).
  - 3) Merendam kembali endapan hasil saringan menggunakan etanol selama satu malam, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring kembali (maserat 2).
  - 4) Maserat 1 dan maserat 2 dicampur lalu di saring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga mengental dan di dapatkan volume total ekstrak kental 50 ml
- e. Pembuatan konsentrasi bahan uji
  - 1) Larutan ekstrak 100% yang sudah dipekatkan lalu diencerkan menjadi konsentrasi 0,5% ,1%, 1,5% ,2% ,dan 2,5%
  - 2) Rumus pengenceran ekstrak bawang putih tunggal yang digunakan adalah  $V_1 \times \%_1 = V_2 \times \%_2$  .
- f. Penyediaan sampel larva dengan melakukan penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* menjadi larva
- g. Uji efektivitas ekstrak bawang putih tunggal dengan konsentrasi 0,5% ,1%, 1,5% ,2% ,dan 2,5%. Larva diletakkan ke dalam gelas plastik yang berisi berbagai konsentrasi bawang putih tunggal. Data

yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati di setiap konsentrasi. Perhitungan larva yang mati dilakukan setiap 2 jam selama 12 jam pada masing-masing konsentrasi ekstrak bawang putih tunggal . Kontrol negatif aquadest 100ml dan kontrol positif berupa abate 0.01%.

## 2. Cara kerja

### a. Persiapan alat dan bahan

1. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur, pipet tetes, pipet ukur, kertas saring, cover glass, objek glass, botol reagen berwarna gelap, *rotary evaporator*, gelas plastik, gelas ukur, sendok plastik, nampan plastik dan aluminium foil.
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, bawang putih tunggal, etanol, dan larva nyamuk *Aedes aegypti*.

### b. Pembuatan Simplisia

Sampel bawang putih tunggal sebanyak 3 kg, kemudian bawang putih tunggal dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Bawang putih tunggal selanjutnya dirajang dan dikeringkan dengan cara ditutup kain hitam dibawah sinar matahari secara tidak langsung. Simplisia yang telah kering lalu diserbuk dan disimpan dalam wadah yang kering

### c. Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

1. Gelas ukur dengan volume 1500 ml disiapkan untuk pembuatan ekstrak
2. 1 kg simplisia yang telah halus dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap, ditambahkan larutan etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan pengadukan selama satu jam sekali setiap hari, kemudian dipisahkan antara endapan dan filtratnya dengan kertas saring (maserat1)
3. Endapan direndam dengan etanol 96% kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring (maserat 2)
4. Maserat 1 dan maserat 2 dicampur dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental dan di dapatkan volume total ekstrak kental 50 ml

5. Ekstrak kemudian disimpan pada wadah berbahan gelas yang steril, bersih, dan kering (BPOM RI, 2010).
6. Ekstrak diencerkan aquades sampai konsentrasi 0,5% ,1%, 1,5% ,2% ,dan 2,5%. menggunakan aquadest steril dengan rumus pengenceran: (Manu,2013)

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

Keterangan :

**V1** = Volume larutan uji yang dipipet (ml)

**%1** = Konsentrasi larutan uji (100%)

**V2** = Volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest steril

**%2** = Konsentrasi yang akan dibuat (%)

d. Penyediaan larva *Aedes aegypti*

Telur nyamuk *Aedes aegypti* diperoleh dari Balai Litbang Kesehatan Baturaja. Telur ditetaskan dalam wadah nampan plastik yang berisi air bersih. Telur menetas menjadi larva, dan diberi pellet sebagai makanannya, dalam 2 hari menjadi larva instar 1, kemudian larva instar I berubah menjadi larva instar II setelah 2 hari, dan menjadi larva instar III setelah 2 hari. Sebelum digunakan diperiksa kembali salah satu larva secara mikroskopis dengan cara :

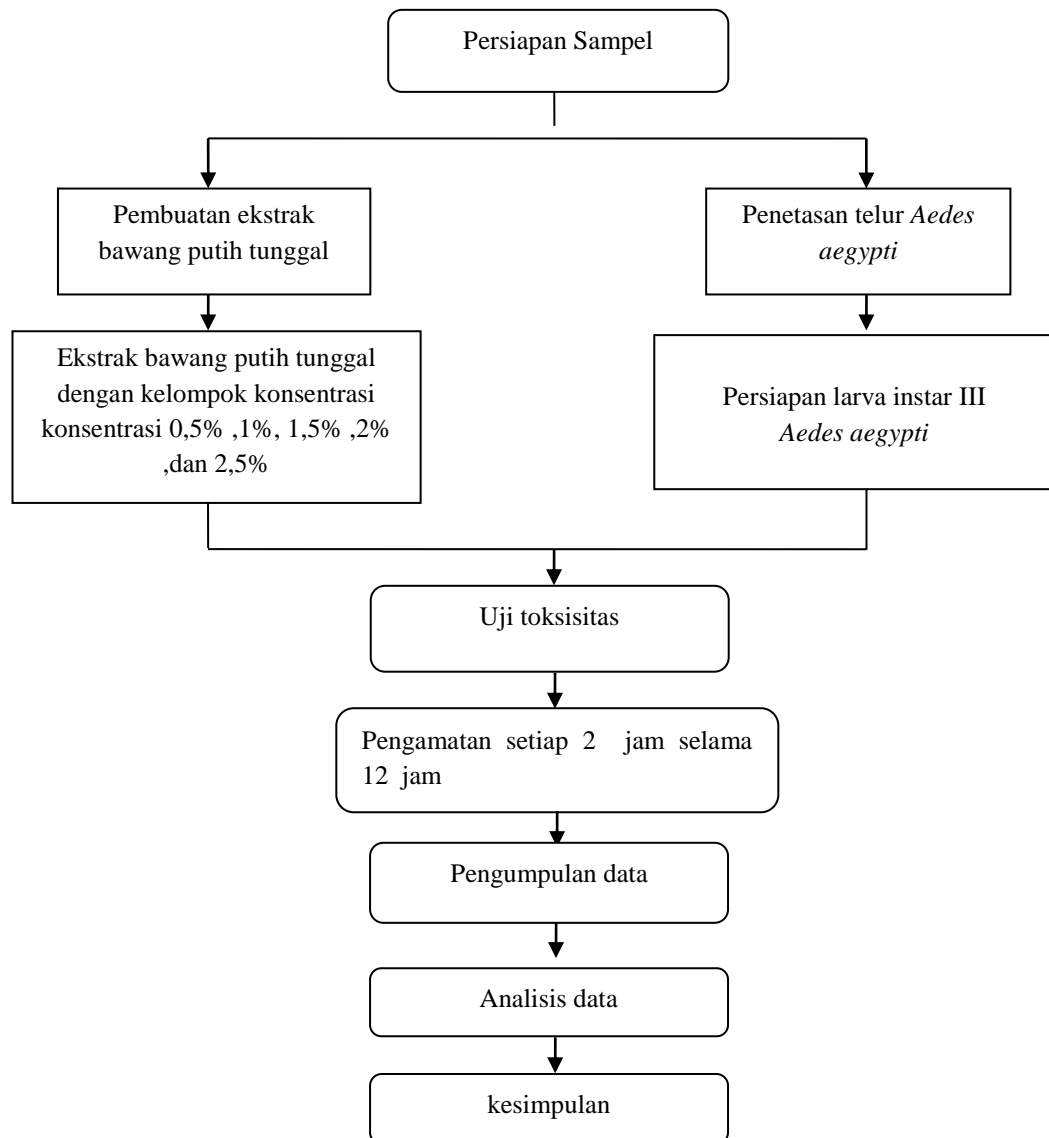
1. Larva diletakkan di objek glass, lalu ditutup deck glass dan diperiksa di bawah mikroskop perbesaran 4 x 10.
2. Ciri-ciri larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* : duri thorax yang mulai terlihat jelas dengan warna siphon coklat kehitaman dan pergerakan sangat aktif pada media air, larva instar III siap digunakan.

e. Uji efektivitas

1. Menyiapkan 5 gelas plastik, masing-masing gelas plastik diisi ekstrak bawang putih tunggal dengan konsentrasi 0,5%.1%,1,5% , 2% dan 2,5%

2. Membuat kontrol negatif dengan mengisi satu gelas plastik menggunakan 100 ml aquades.
3. Membuat kontrol positif dengan mengisi satu gelas plastik menggunakan 0,01 gram bubuk abate dalam 100 ml aquades.
4. Mengambil sebanyak 25 ekor larva instar III *Aedes aegypti* dan dipindahkan ke masing-masing gelas plastik yang berisi ekstrak bawang putih tunggal yang telah diencerkan pada setiap konsentrasi.
5. Semua perlakuan diatas diulangi sebanyak 5 kali dengan waktu pengamatan setiap 2 jam selama 12 jam (Yasi,2018)

### 3. Alur Penelitian



#### **F. Pengolahan data dan analisis data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji regresi untuk mengetahui hubungan masing-masing variabel yaitu hubungan kematian larva *Aedes aegypti* dengan ekstrak bawang putih tunggal dan di lanjutkan uji One-Way Anova, jika P-value  $<0,05$  dengan mencari tingkat perbedaan jumlah kematian larva, kemudian dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan tingkat kesalahan 5% dan tingkat kepercayaan 95%.

#### **G. Ethical clearance**

Penelitian ini tidak akan menimbulkan bahaya bagi lingkungan, limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini akan dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah. limbah larutan konsentrasi ekstrak bawang putih dari aqua gelas akan langsung dibuang ke saluran pembuangan karena tidak membahayakan lingkungan. Sedangkan limbah aqua gelas bekas di kumpulkan dan akan langsung dibuang kedalam limbah sampah bahan anorganik. Sementara, untuk sisa telur dan larva dari nyamuk *Aedes aegypti* akan dikubur atau ditimbun ke dalam tanah.