

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Rancangan Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimen sungguhan (*true eksperimental*). Jenis rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial yaitu percobaan dimana faktor yang dicobakan lebih dari satu faktor dan menggunakan RAK sebagai rancangan percobaannya, untuk mengetahui kadar flavanoid tertinggi pada campuran daun dan biji sirsak (*Annona muricata.L*) sebagai biolarvasida *Aedes aegypti*.

**Tabel 2.1**  
**Rancangan Penelitian**  
**Konsentrasi dan Bahan Yang Digunakan Dari Ekstrak Daun dan Biji Sirsak**  
**(*Annona Muricata.L*) Sebagai Biolarvasida *Aedes aegypti***

Konsentrasi Daun Sirsak ( <i>Annona muricata.L</i> )	Konsentrasi Biji Buah Sirsak ( <i>Annona muricata.L</i> )		
	B1 100%	B2 50%	B3 0%
D1 0%	0%.100%	0%.50%	0%.0%
D2 50%	50%.100%	50%.50%	50%.0%
D3 100%	100%.100%	100%.50%	100%.0%

#### B. Populasi dan Sampel

##### 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 flavanoid dan larva *Aedes aegypti*.

## 2. Sampel

Dalam penentuan terhadap sampel penulis menentukan jumlah sampel kadar flavanoid pada campuran ekstrak daun dan biji sirsak serta variasi pengencer dengan 3 kali pengulangan.

Besar sampel 3 kali pengulangan sebanyak 9 sampel yang akan di uji cobakan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Jurusan Kesehatan 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**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Negeri Lampung dan Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan waktu pelaksanaan penelitian pada bulan Februari sampai bulan April sampai bulan juni tahun 2022.

### **D. Variable Penelitian**

1. Variable bebas atau *independent variable* penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak daun dan biji sirsak (*Annona muricata.L*) pada jenis pengencer.
2. Variable terikat atau *dependent variable* penelitian ini adalah kandungan flavanoid tertinggi dari campuran ekstrak daun dan biji sirsak
3. Variable kendali penelitian ini adalah suhu, pH, jumlah larva, dan volume air

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

Langkah kerja rearing larva untuk mempersiapkan larva nyamuk *Ae. Aegypti* sebagai indikator uji. Telur dibeli di Lokalitbang 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 akan terlihat jelas larva instar III nyamuk *Ae. aegypti*.
- 4) Larva nyamuk instar III, yang akan digunakan dalam pengujian terhadap ekstrak daun dan biji sirsak sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan dalam penelitian.

## **F. Tahap Penelitian**

### **1. Tahap Persiapan**

#### a. Alat :

- 1) Kotak pemeliharaan.
- 2) Wadah plastik.
- 3) Wadah telur nyamuk.
- 4) *Beaker glass*.
- 5) Neraca analitik.
- 6) Pipet ukur.
- 7) Pipet tetes.
- 8) Kertas saring.
- 9) Pipet tetes.
- 10) Blander/Penumbuk.
- 11) Stopwatch.
- 12) Timbangan.
- 13) Hot Plate.

#### b. Bahan

- 1) Telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III
- 2) Ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata.L*)
- 3) Ekstrak Biji sirsak (*Annona muricata.L*)
- 4) Etanol 96%
- 5) Aquades

## **2. Pembuatan Ekstrak Daun sirsak**

- a. Mengambil daun sirsak (*Annona muricata L.*) sebanyak 1 kg.
- b. Daun sirsak (*Annona muricata.L*) yang telah didapatkan dibersihkan menggunakan air lalu dipisahkan antara daun dengan batangnya
- c. Keringkan daun sirsak dibawah terik matahari. Setelah daun salam kering lalu dihaluskan menggunakan blender/penumbuk hingga menjadi serbuk
- d. Maserasi bubuk daun sirsak dengan cara merendam daun sirsak di dalam larutan etanol dengan perbandingan 1 : 2 selama kurang lebih 3 hari pada suhu ruangan dan ditutup menggunakan kertas atau plastik
- e. Setelah direndam 3 hari, kemudian saring hasil rendaman menggunakan kertas saring dengan bantuan corong, lalu masukkan kedalam wadah botol/*beaker glass*
- f. Menyaring menggunakan kertas saring, lalu panaskan dengan menggunakan hot plate sampai volume berkurang dan agak mengental.

## **3. Pembuatan Ekstrak Biji sirsak**

- a. Mengambil biji sirsak (*Annona muricata L.*) sebanyak 500 gram.
- b. Biji sirsak (*Annona muricata.L*) yang telah didapatkan dibersihkan menggunakan air.
- c. Menumbuk biji sirsak hingga hancur.
- d. Maserasi bubuk biji sirsak dengan cara merendam biji sirsak di dalam larutan etanol dengan perbandingan 1 : 2 selama kurang lebih 3 hari pada suhu ruangan dan ditutup menggunakan kertas atau plastik

- e. Setelah direndam 3 hari, kemudian saring hasil rendaman menggunakan kertas saring dengan bantuan corong, lalu masukkan kedalam wadah botol/*beaker glass*.
- f. Menyaring menggunakan kertas saring, lalu panaskan dengan menggunakan hot plate sampai volume berkurang dan agak mengental.

#### **4. Pembuatan Ekstrak Daun dan Biji sirsak**

- a. Memipet 10 ml ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dimasukkan kedalam beaker glass.
- b. Memipet 10 ml ekstrak biji sirsak (*Annona muricata L.*) dimasukkan kedalam beaker glass.
- c. Menambahkan aquades 80 ml, mengaduk sampai tercampur sempurna.

#### **5. Prosedur kerja**

##### **a. Uji Flavanoid**

- 1) Buat 9 sampel dengan 3 kali pengulangan sehingga total sampel 27 sampel. Variasi ekstrak campuran daun dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan jenis pengencer etanol 96%, dan 1 sampel kontrol yaitu ekstrak daun sirsak (*Annona muricata.L*) dan ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata.L*)
- 2) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 0% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 100% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 1 : 1.
- 3) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 0% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan

kadar 50% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 1 : 1.

- 4) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 0% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 0% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 1 : 1.
- 5) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 50% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 100% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.
- 6) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 50% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 50% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.
- 7) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 50% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 0% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.
- 8) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 100% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 100% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.
- 9) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 100% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan

kadar 50% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.

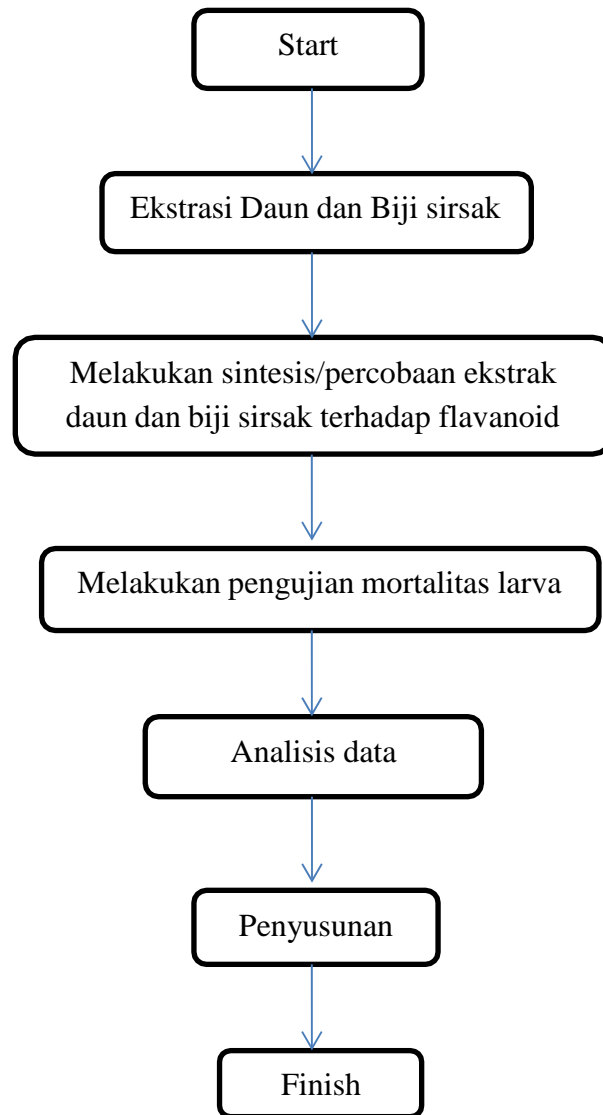
- 10) Buat sampel ekstrak campuran daun sirsak (*Annona muricata.L*) dengan kadar 100% dan biji sirsak (*Annona Muricata.L*) dengan kadar 0% menggunakan jenis pengencer etanol 96% dengan perbandingan 0,5 : 1.
- 11) Sampel tersebut akan diuji lab. Untuk mengetahui hasil perbandingan kadar flavonoidnya.

#### **b. Uji Mortalitas Jentik**

- 1) Siapkan 3 *beaker glass* yang berisi masing-masing 100 ml air.
- 2) Masukkan 20 ekor larva *Aedes Aegypti* kedalam masing-masing *beaker glass*
- 3) Isi *beaker glass* pertama menggunakan hasil kombinasi ekstrak (daun dan biji sirsak) yang telah diketahui kadar flavanoidnya ( dengan perlakuan)
- 4) Isi beaker glass kedua menggunakan hasil ekstraksi flavanoid tanpa perlakuan dari ekstrak daun sirsak.
- 5) Isi beaker glass kedua menggunakan hasil ekstraksi flavanoid tanpa perlakuan dari ekstrak biji sirsak.
- 6) Ukur suhu dan pH pada masing-masing gelas ukur
- 7) Setelah itu amati dan catat kematian larva pada lama waktu kontak 10 menit, 20 menit, 30 menit, 40 menit, 50 menit, dst untuk mengetahui perfoma/kinerja daya racun dari flavanoid pada bahan-bahan tersebut sehingga dapat diketahui nilai LD50 nya



## G. Alur Penelitian



Keterangan :

1. Pembuatan ekstrak daun dan biji sirsak dengan tambahan pelarut etanol.
2. Melakukan sintesis/ percobaan dilakukan di laboratorium untuk mengetahui dan membandingkan kadar flavanoid ekstrak daun sirsak, biji sirsak, dan campuran ekstrak daun dan biji sirsak sebanyak 9 sampel dengan 3 kali pengulangan.
3. Setelah didapatkan hasil laboratorium kadar flavanoid masing – masing bahan, lalu melakukan pengujian mortalitas jentik *Aedes aegypti* instar III. Pengujian dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan mortalitas jentik untuk mendapatkan LD<sub>50</sub>.
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

Kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmodjo 2010, h. 177). Pada penelitian ini, peneliti memberikan kode sebagai berikut:

#### b. Tabulating

Tabulating (pentabulasian) meliputi pengelompokan data sesuai dengan tujuan penelitian kemudian dimasukkan ke dalam tabel- tabel yang telah ditentukan yang mana sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2010). Dalam penelitian ini data disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan hasil efektivitas daya larvasida ekstrak daun dan biji sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*.

## **2. Analisis Data**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis bivariat karena penelitian ini dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Notoadmojo, 2014). Analisis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan hubungan masing-masing variabel bebas (Independen) terhadap variabel terikat (dependen) dan teknik analisis data menggunakan anova two way.

Two Way Anova disebut juga dengan Anova 2 Arah atau Analisis Varian 2 Faktor. Anova dua arah membandingkan perbedaan rata-rata antara kelompok yang telah dibagi pada dua variabel independen (disebut faktor). Anda perlu memiliki dua variabel independen berskala data kategorik dan satu variabel terikat berskala data kuantitatif/numerik(interval atau rasio).

