

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen, penelitian eksperimen atau percobaan adalah suatu penelitian dengan menggunakan percobaan (*experiment*) yang bertujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul, sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tersebut (Notoatmodjo, 2010). Metode eksperimen merupakan penelitian kuantitatif. Penelitian kuantitatif merupakan suatu cara yang digunakan untuk menjawab masalah penelitian yang berkaitan dengan data berupa angka dan program statistik.

Penelitian yang dilakukan menggunakan Rancangan eksperimen *Posttest-only with Control Group Design* yaitu dimana satu kelompok dilakukan perlakuan dan satu kelompok merupakan kontrol (tidak dilakukan perlakuan).

Pemilihan subjek ke dalam kedua kelompok dikenai eksperimen pada penelitian ini menggunakan proses randomisasi. Randomisasi sampel menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial adalah eksperimen yang menggunakan lebih dari satu perlakuan atau lebih dari satu variabel bebas.

Rancangan acak lengkap digunakan ketika apabila dari dua atau lebih faktor yang menggabungkan tingkatan faktor. Jumlah tingkatan tiap tingkat faktor dan jumlah replikasi yang dilakukan mungkin tidak sama, blok sampel yang digunakan *Randomized sampling* yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi (0% sebagai kontrol, 35%, 40%, 45%, dan 50% sebagai perlakuan) dan 4 taraf waktu kontak (6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam) sehingga jumlah variasi yang didapatkan yaitu 20 variasi. Secara lengkap variasi perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1
Variasi Konsentrasi dan Waktu Kontak Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*

Konsentersasi Ekstrak Daun Mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L.</i>)					
Waktu Kontak	A (0%)	B (35%)	C (40%)	D (45%)	E (50%)
6 jam	A1	B1	C1	D1	E1
12 jam	A2	B2	C2	D2	E2
18 jam	A3	B3	C3	D3	E3
24 jam	A4	B4	D4	D4	E4

B. Lokasi Penelitian Dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Politeknik Tanjung Karang Jurusan Sanitasi Lingkungan dan waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret – April tahun 2023.

C. Subjek Penelitian

Menurut (WHO, 2005), besar sampel untuk satu perlakuan dalam penelitian eksperimen adalah 25. Subyek yang diteliti adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang dikembangkan sendiri. Ada 25 larva yang digunakan pada penelitian ini untuk setiap perlakuan dan kontrol. Banyaknya replikasi setiap perlakuan dicari menggunakan rumus Federer (1977) (Wahyuningrum & Probosari, 2012) (Wahyuningrum & Probosari, 2012).

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

Keterangan : t = perlakuan

r = replikasi (pengulangan)

15 = derajat kebebasan umum

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

$$(16-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$15r - 15 \geq 15$$

$$15r \geq 15+15$$

$$15r \geq 30$$

$$r \geq 30/15$$

$$r = 2$$

Berdasarkan perhitungan diatas maka replikasi penelitian dilakukan sebanyak 2 kali, sehingga jumlah perlakuan sebanyak 32 kali. Selanjutnya, untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan, maka digunakan kontrol pada setiap waktu kontak perlakuan. Maka akan diperoleh 40 data penelitian yang terdiri dari 32 data

perlakuan dan 8 data non-perlakuan (kontrol). Sehingga jumlah larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan sebanyak 1000 ekor (40 x 25 ekor).

Pemilihan subjek ke dalam kedua kelompok yang dikenai eksperimen menggunakan proses randomisasi. Randomisasi sampel menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Pada penelitian ini dilakukan randomisasi dengan blok (*Blocked randomization*). Randomisasi dan pembuatan *Lay Out* dengan cara undian, dengan langkah – langkah:

1. Siapkan 40 ($t \times r = 20 \times 2 = 40$) potong kertas, dan tuliskan simbol – simbol (A1, A2, A3.....B1, B2, B3,.....E1, E2, E3,.....F1, F2,F3.....) yang menunjukkan perlakuan.
2. Campurkan ke 40 potong kertas dengan tulisan perlakuan dan ulangan tersebut dalam satu wadah. Ambil satu potong kertas tersebut, tanpa dikembalikan, ambil satu kertas lagi, dan seterusnya.
3. Sebelum mengambil potongan kertas ke dalam wadah, campurkan terlebih dahulu dan tuliskan tulisan pada potongan kertas di tabel *Lay Out* yang telah buat sebelumnya. Hasil randomisasi blok sampel disajikan sebagai berikut:

Tabel 3.2

Randomisasi Blok Sampel Replika 1

A2	B4	A1	D4	C4
C3	B2	E1	C2	D1
B1	D3	A4	E3	A3
B3	D2	E2	E4	C1

Tabel 3.3

Randomisasi Blok Sampel Replika 2

B3	A4	E1	B4	A3
B1	C1	A1	D1	E3
D3	A2	D2	C2	E4
B2	D4	C3	C4	D2

D. Variabel Penelitian

Variable dalam penelitian ini yaitu :

a. Variabel bebas (*independent*)

Variable bebas (*independent*) dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia L*) 0%, 35%, 40%, 45%, dan 50% dan waktu kontak 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam pengamatan terhadap kematian larva *Aedes aegypti*.

b. Variabel terikat (*dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah kematian larva nyamuk Instar III *Aedes aegypti*.

c. Variabel Terkendali

Adapun variabel terkendali dalam penelitian ini adalah pH dan suhu.

E. Definisi Operasional

Tabel 3.4

Definisi Operasional

No	Variabel Peneliti	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L</i>)	Jumlah konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L</i>) yang digunakan.	Volumetri	Pengukuran	35% 40% 45% 50%	Interval
2	Waktu kontak	Lamanya sampel larva <i>Aedes aegypti</i> kontak dengan ekstrak buah daun mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L</i>).	Stopwatch	Observasi/ pengukuran	6 jam 12 jam 18 jam 24 jam	Interval
3	Jumlah kematian larva <i>Aedes aegypti</i>	Banyaknya larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati setelah perlakuan dengan variasi ekstrak dan lama waktu kontak	<i>Tally Counter</i>	Observasi	25 ekor	Ratio
4	Suhu	Derajat panas pada	Thermometer	Pengukuran	25-30 °C	Ratio

		masing masing blok sampel				
5	pH	Tingkat Keasaman pada masing masing blok sampel	pH meter	Pengukuran	<p><6 : Asam</p> <p>>7 : Basa</p> <p>=7 : Netral</p>	Interval

F. Teknik Pengumpulan Data

Tabel 3.5

Teknik Pengumpulan Data

No	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1	Konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L</i>)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur volumetri 3. Daun mengkudu diperoleh di kebun milik salah satu warga Pekalongan, Lampung Timur 4. Konsentrasi ekstrak dihitung menggunakan rumus pengenceran: $(V_1.N_1 = V_2.N_2)$.
2	Waktu kontak	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur Stopwatch 3. Pengukuran dilakukan pada waktu kontak 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam.
3	Jumlah kematian larva <i>Aedes aegypti</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Observasi 2. Alat ukur <i>Tally counter</i> 3. Pengamatan dilakukan pada waktu kontak 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam.
4	Suhu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur thermometer 3. Diukur pada masing – masing blok sampel pada suhu antara 25°C - 30°C karena larva <i>Aedes aegypti</i> dapat berkembang pada suhu optimal tersebut.
5	pH	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur pH Meter 3. Diukur pada masing – masing blok sampel dengan pH antara 6,8-8,5 karena kisaran pH tersebut larva <i>Aedes aegypti</i> dapat berkembang optimal.

G. Tahap Penelitian

Tahap penelitian dibagi menjadi 2 tahap, diantaranya yaitu:

1. Tahap persiapan

- a. Pembuatan ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia L*)
 - 1) Daun mengkudu yang digunakan adalah daun mengkudu yang masih sehat dan segar, kemudian daun yang telah didapatkan ditimbang seberat 5 kg.
 - 2) Daun mengkudu kemudian dicuci menggunakan air bersih agar semua kotoran yang menempel hilang, setelah itu tiriskan.
 - 3) Kemudian lakukan proses penjemuran di suhu ruangan, proses penjemuran ini bertujuan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kerusakan pada ekstrak daun mengkudu dan agar ekstrak daun mengkudu dapat disimpan semakin lama.
 - 4) Setelah proses penjemuran selesai, selanjutnya daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk daun mengkudu, serbuk ini dinamakan dengan simplisia yang akan digunakan dalam pembuatan ekstrak.
 - 5) Pada penelitian ini pembuatan ekstrak daun mengkudu dilakukan dengan metode maserasi. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Ekstraksi menggunakan pelarut berupa etanol 96% karena sifatnya yang polar dan dapat mengekstraksi senyawa polar maupun non-polar. Metode maserasi merupakan proses ekstraksi

dengan cara merendam sampel dengan sesekali dilakukan pengadukan. Perbandingan yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1:4. Sebanyak 1500 gram serbuk simplisia di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 6 L selama 5 hari.

- 6) Hasil maserasi atau perendaman dari larutan tersebut disaring menggunakan kain kasa untuk mendapatkan filtrat hasil perendaman. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan *water bath* dengan suhu 40 – 50°C agar pelarut tersebut menguap, sehingga diperoleh hasil akhir berupa ekstrak daun mengkudu dengan konsentrasi 100% sebanyak 2700 ml.
- 7) Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji kerentanan masing masing sebesar 30%, 35%, 45%, dan 50%. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menggunakan air aquades.

Perhitungan menggunakan rumus pengenceran:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

- N1 : konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang tersedia (%)
- V1 : Konsentrasi larutan yang diinginkan (ml)
- N2 :Konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang akan dibuat (%)
- V2 : volume larutan (air + ekstrak) yang diinginkan (ml)

Pada penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi perlakuan (0%, 35%, 40%, 45% dan 50%) dilarutkan dengan aquadest hingga 100 ml.

Perhitungan:

a. Konsentrasi 35%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100\text{ml} \times 35\%$$

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

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

b. Konsentrasi 40 ml

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100\text{ml} \times 40\%$$

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

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

c. Konsentrasi 45%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100\text{ml} \times 45\%$$

$$V_1 = \frac{4500}{100}$$

$$V_1 = 45 \text{ ml}$$

d. Konsentrasi 50%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100\text{ml} \times 50\%$$

$$V_1 = \frac{5000}{100}$$

$$V_1 = 50 \text{ ml}$$

b. Persiapan Larva *Aedes Aegypti*

- 1) Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang diteliti yaitu hasil pembiakan dari telur yang diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan.
- 2) Untuk mendapatkan kondisi yang sesuai, telur nyamuk *Aedes aegypti* dipelihara dalam baskom atau nampan plastik yang berisi air sumur dan diberi penutup kain berlubang kecil di atasnya.
- 3) Setelah itu ukur suhu dan pH pada baskom tersebut. Dengan suhu antara 25°C - 30°C dan pH antara 6,8-8,5, karena kisaran Suhu dan pH tersebut larva *Aedes aegypti* dapat berkembang optimal.
- 4) Setelah larva mencapai stadium larva instar I, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi makanan ikan (fish food).
- 5) Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang telah mencapai stadium larva instar III dipindahkan ke tiap wadah (gelas plastik), Larva yang menjadi sampel dalam penelitian adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang berukuran 4-5 mm atau yang berumur 3-4 hari setelah telur menetas.

Larva *Aedes aegypti* instar III digunakan karena pada fase ini larva aktif mengkonsumsi makanan di air (Afrindayanti et al., 2018).

- 6) Pengambilan larva secara acak, menggunakan pipet kecil/ sendok plastik kemudian dimasukkan ke dalam gelas uji.

2. Tahap Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

a. Alat

- 1) Beaker Glass
- 2) Blender
- 3) Gelas Ukur 100 ml
- 4) Pipet ukur 10 ml
- 5) Pipet ukur 5 ml
- 6) Timbangan
- 7) Pisau
- 8) Saringan
- 9) Batang Pengaduk
- 10) Gelas uji plastik
- 11) Blup
- 12) Thermometer
- 13) Tally Counter
- 14) pH Meter
- 15) Label
- 16) Water Bath
- 17) Stopwatch

b. Bahan

- 1) Ekstrak daun mengkudu 2700 ml
- 2) Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebanyak 1000 ekor
- 3) Aquadest 3 L

4) Etanol 96% 1 L

c. Cara Kerja

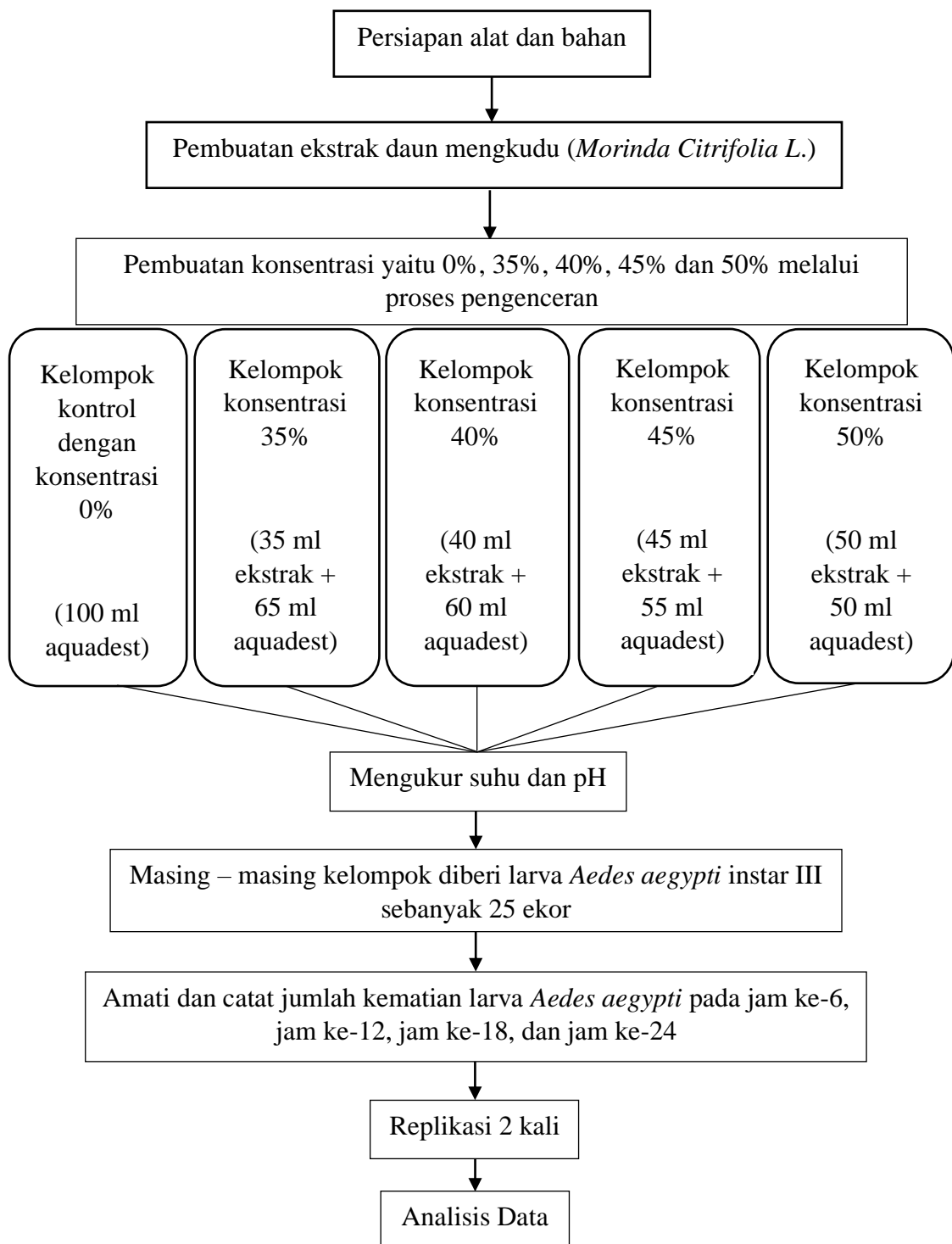
1. Siapkan 20 gelas uji untuk satu kali pengulangan (16 gelas untuk perlakuan dan 4 gelas untuk kontrol). Jumlah gelas yang diperlukan pada penelitian ini yaitu 40 buah.
2. Berikan label pada masing – masing gelas uji sesuai konsentrasi yang akan digunakan.
3. Isi gelas uji tersebut menggunakan aquadest dan ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia L*).
 - Konsentrasi 35% (35ml ekstrak daun mengkudu + 65ml aquadest)
 - Konsentrasi 40% (40ml ekstrak daun mengkudu + 60ml aquadest)
 - Konsentrasi 45% (45ml ekstrak daun mengkudu + 55ml aquadest)
 - Konsentrasi 50% (50ml ekstrak daun mengduku + 50ml aquadest)
 - Dan untuk 0% sebagai kontrol diisi 100ml aquadest.
4. Setelah itu ukur suhu dan pH pada masing – masing gelas uji.
5. Selanjutnya masukkan 25 larva *Aedes aegypti* instar III ke masing – masing gelas uji.
6. Amati dan catat jumlah kematian larva *Aedes aegypti* pada jam ke-6, jam ke-12, jam ke-18, dan jam ke-24.

7. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Kematian larva nyamuk adalah apabila larva *Aedes aegypti* instar III disentuh tidak bergerak dengan kriteria objektif sebagai berikut:

Hidup : Apabila larva disentuh dan masih mengalami pergerakan

Mati : Apabila larva disentuh tidak bergerak lagi
(Afrindayanti et al., 2018).

d. Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.1 Alur Kerja Penelitian

H. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. Coding

Coding adalah mengubah data berbentuk kalimat/huruf menjadi suatu data angka atau bilangan.

b. Editing

Sebelum data diolah, data perlu diedit terlebih dahulu. Data atau keterangan yang telah dikumpulkan dalam record book perlu dibaca sekali lagi apabila masih terdapat hal-hal yang salah atau meragukan maka perlu diperbaiki.

c. Cleaning

Semua data dari setiap sumber data selesai dimasukkan, perlu dicek kembali untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, tidak lengkapnya data dan sebagainya, kemudian dilakukan pembetulan atau koreksi.

d. Tabulating

Memasukkan data ke dalam tabel-tabel, dan mengatur angka-angka sehingga dapat dihitung jumlah kasus dalam berbagai kategori.

2. Analisis Data

a. Analisis Univariat

Analisa univariat bertujuan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis univariat tergantung dari jenis datanya. Untuk data numerik, digunakan nilai mean dan atau rata-rata, median dan standar deviasi (Notoatmodjo, 2010). Variabel yang diuji secara univariat adalah presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah kontak dengan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) pada setiap konsentrasi dan masing-masing waktu pengamatan.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat yang dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Notoatmodjo, 2010). Analisis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan konsentrasi dan waktu pada masing-masing variabel bebas (*independent*) terhadap variabel terikat (*dependent*). Teknik analisis yang digunakan adalah analisis Regresi Linier karena data pada penelitian ini bersifat numerik – numerik maka analisis data yang digunakan adalah Regresi Linier.