

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan menggunakan metode eksperimen. Penelitian kuantitatif merupakan jenis penelitian yang bersifat objektif, mencakup pengumpulan dan analisis data kuantitatif dengan menggunakan pengujian statistik (Masturoh et al., 2018). Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen, penelitian eksperimen atau percobaan (experimental research) adalah suatu penelitian dengan melakukan kegiatan percobaan (experiment), yang bertujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul, sebagai sebab akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tersebut (Notoatmodjo, 2010).

Penelitian yang dilakukan menggunakan Rancangan eksperimen *Posttest-only Control Group Design* yaitu dimana satu kelompok dilakukan perlakuan dan satu kelompok lagi merupakan kontrol (tidak dilakukan perlakuan). Dan pada akhir penelitian kedua kelompok dikenai Posttest.

Pada eksperimen ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam membunuh lalat rumah (*Musca domestica*) berdasarkan konsentrasi dan waktu pengamatan. Pemilihan subjek ke dalam kedua kelompok yang dikenai eksperimen menggunakan proses randomisasi.

Randomisasi sampel menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), hanya melihat satu pengaruh satu factor peubah bebas (factor) terhadap peubah respon. Jumlah level tiap level faktor dan atau jumlah replikasi yang dilakukan mungkin tidak sama, blok sampel yang digunakan Randomized sampling yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi (0% sebagai kontrol, 25%, 30%, 35%, dan 40% sebagai perlakuan). Secara lengkap variasi kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1
Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Terhadap Kematian Lalat rumah (*Musca domestica*)

Konsentrasi Ekstrak Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>)				
(A) 0%	(B) 25%	(C) 30%	(D) 35%	(E) 40%

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Sanitasi Lingkungan dan waktu penelitian dapat dilihat pada tabel berikut.

No	Kegiatan	Nov	Des	Mar	Apr	Mei
1	Pengajuan Judul Proposal					
2	Penyusunan Proposal Penelitian					
3	Persiapan Alat dan Bahan					
4	Penelitian					
5	Analisis Data					
6	Penyusunan Hasil Penelitian					

C. Subjek Penelitian

1. Populasi dalam penelitian ini adalah lalat rumah (*Musca domestica*) yang dikembangkan sendiri di Laboratorium Poltekkes Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan.
2. Sampel untuk pembuatan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) didapatkan dari Kota Metro. Ekstrak daun mengkudu ialah hasil ekstraksi daun mengkudu dengan cara maserasi. Menggunakan metode maserasi

karena daun mengkudu mengandung flavonoid dan antosianin yang tidak tahan pada suhu tinggi. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana.

3. Sampel lalat yang digunakan yaitu berjumlah 10 lalat *Musca domestica* pada setiap kelompok, baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Pada kontrol lalat *Musca domestica* disemprot menggunakan aquadest dan perlakuan disemprot menggunakan ekstrak daun mengkudu. Banyaknya replikasi setiap perlakuan dicari menggunakan rumus Federer (1977) dalam penelitian Putri (2019) sebagai berikut:

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

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

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

$$4 r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq \frac{19}{4}$$

$$r \geq 4,75 = 5 \text{ kali pengulangan}$$

Keterangan :

t : treatment (perlakuan)

r : replikasi (pengulangan)

Berdasarkan perhitungan diatas maka replikasi penelitian dilakukan minimal sebanyak 5 kali sehingga jumlah perlakuan sebanyak 25 kali. Selanjutnya, untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan, maka digunakan kontrol pada setiap konsentrasi perlakuan. Maka akan diperoleh 25 data penelitian yang terdiri dari 20 data perlakuan dan 5 data non-perlakuan (kontrol). Sehingga jumlah lalat rumah yang dibutuhkan sebanyak 250 ekor (25 x 10 ekor).

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

- a. Siapkan 5 ($t \times r = 5 \times 5 = 25$) potong kertas, dan tuliskan simbol simbol (A, B, C, D, E) yang menunjukkan perlakuan. Campurkan ke 5 potong kertas dengan tulisan perlakuan dan ulangan tersebut dalam satu wadah.
- b. Mengambil satu potong kertas tersebut, tanpa dikembalikan, ambil satu kertas lagi, dan seterusnya. Sebelum mengambil potongan kertas dalam wadah, harap diaduk aduk dulu, dan tuliskan tulisan pada potongan kertas kertas tadi pada tabel Lay Out yang telah dipersiapkan.

Hasil randomisasi blok sampel disajikan sebagai berikut:

Tabel 3.2
Randomisasi Blok Sampel Replika 1

B	E	A	D	C
---	---	---	---	---

Tabel 3.3
Randomisasi Blok Sampel Replika 2

A	C	E	B	D
---	---	---	---	---

Tabel 3.4
Randomisasi Blok Sampel Replika 3

D	B	C	A	E
---	---	---	---	---

Tabel 3.5
Randomisasi Blok Sampel Replika 4

C	A	B	E	D
---	---	---	---	---

Tabel 3.6
Randomisasi Blok Sampel Replika 5

E	D	C	A	B
---	---	---	---	---

D. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang nantinya akan digunakan dalam penelitian.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas (independent) dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 0% sebagai kontrol dan 25%, 30%, 35%, dan 40% sebagai perlakuan untuk melihat pengaruh ekstrak daun mengkudu dalam mematikan lalat rumah.

Konsentrasi dipilih karena berdasarkan penelitian Sarmeto (2021) konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang digunakan adalah 10%, 15%, 20% dan hasilnya masih kurang efektif. Oleh karena itu pada penelitian ini peneliti menaikkan konsentrasinya.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat (dependen) pada penelitian ini adalah kematian lalat rumah setelah diberi perlakuan konsentrasi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu (terkendali) dapat dikendalikan dengan cara sebagai berikut:

- a) Suhu dapat dikendalikan dengan cara meletakkan masing-masing media dengan cara berdekatan dan melakukan pengukuran suhu menggunakan alat thermometer.

- b) Kelembaban dapat dikendalikan cara meletakkan masing-masing media dengan cara berdekatan dan melakukan pengukuran suhu menggunakan alat higrometer.

E. Definisi Operasional

Tabel 3.7 Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.)	Jumlah konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) yang digunakan yaitu 0%, 25%, 30%, 35%, dan 40%	Volumetri	Pengukuran	Persen (%) volume (menggunakan konsentrasi) 1. 25% 2. 30% 3. 35% 4. 40%	Interval
2	Jumlah kematian lalat	Banyaknya lalat rumah yang mati setelah perlakuan dengan variasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) dengan waktu pengamatan 12 jam.	Pena dan Kertas	Observasi	Jumlah ekor lalat yang mati	Rasio
3	Suhu	Besaran yang menyatakan derajat panas dingin pada masing-masing blok sampel	Termohyrometer	Pengukuran	Derajat Celcius (°C)	Interval
4	Kelembaban	Besaran tingkat kandungan uap air dalam udara di masing-masing blok sampel	Termohyrometer	Pengukuran	% RH	Interval

F. Teknik Pengumpulan Data

Tabel 3.8 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. Observasi/pengukuran 2. Alat ukur volumetri 3. Daun Mengkudu didapat dari Kota Metro 4. Konsentrasi ekstrak dihitung menggunakan rumus : $V1.N1 = V2.N2$ (perhitungan ekstrak ada pada tahapan penelitian)
2	Jumlah kematian lalat	<ol style="list-style-type: none"> 1. Observasi 2. Setiap terdapat lalat yang mati, maka alat ukur ditekan satu kali
3	Suhu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur thermohygrometer 3. Diukur pada masing-masing blok sampel
4	Kelembaban	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengukuran 2. Alat ukur thermohygrometer 3. Diukur pada masing-masing blok sampel

G. Tahapan Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

- 1) Gelas Ukur
- 2) Bulb
- 3) Beaker Glass
- 4) Jaring Untuk Menangkap Lalat
- 5) Pipet Ukur
- 6) Kandang
- 7) Corong

- 8) Botol Sample
- 9) Kertas Saring
- 10) Botol Semprot
- 11) Toples
- 12) Alumunium Foil
- 13) Water Bath

b. Bahan

- 1) Ekstrak daun mengkudu
- 2) Lalat rumah (*Musca domestica*)
- 3) Ekstrak etanol 96%
- 4) Aquadest

2. Cara Kerja Pembuatan Ekstrak

1. Daun mengkudu yang digunakan adalah daun mengkudu yang masih sehat dan segar sebanyak 1kg, kemudian daun yang telah didapatkan dicuci menggunakan air bersih agar semua kotoran yang menempel hilang, setelah itu tiriskan. Kemudian lakukan proses penjemuran, proses penjemuran ini bertujuan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kerusakan pada ekstrak daun mengkudu dan agar ekstrak daun mengkudu dapat disimpan semakin lama. 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.

2. Pembuatan ekstrak daun mengkudu dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu flavonoid dan antosianin tidak tahan pada suhu tinggi. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Ekstraksi digunakan pelarut berupa etanol 96% karena sifatnya yang polar dan dapat mengekstraksi senyawa polar maupun non-polar. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifat etanol yang mampu menghambat pertumbuhan kuman, absorbansinya baik, tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, sifatnya yang mampu menghambat kerja enzim dan sangat efektif dalam menghasilkan ekstrak yang optimal. Metode maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara merendam sampel dengan sesekali dilakukan pengadukan. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:5. Sebanyak 300g serbuk simplisia di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5L selama 5 hari dengan pengadukan 1x24jam selama 15 menit.
3. 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 – 60°C hingga diperoleh hasil akhir berupa ekstrak daun mengkudu. Dalam penelitian Chairunnisa (2019) mengatakan bahwa suhu 50°C merupakan suhu yang paling optimal untuk melakukan maserasi, karena apabila suhu terlalu rendah senyawa menjadi kurang terlarut

dengan sempurna, namun apabila suhu terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses.

4. Hasil ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak daun mengkudu dengan konsentrasi 100%.
5. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji kerentanan masing masing sebesar 25%, 30%, 35%, dan 40%. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menggunakan air aquades.

Pengenceran menggunakan rumus:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan :

- $V1$ = Volume larutan yang akan di encerkan (ml)
- $N1$ = Konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang tersedia (%)
- $V2$ = Volume larutan (aquadest + ekstrak) yang diinginkan (ml)
- $N2$ = Konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang akan dibuat (%)

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi perlakuan (0% sebagai kontrol, 25%, 30%, 35%, 40%) dilarutkan dengan aquades hingga 100ml.

Perhitungan :

a. Konsentrasi 25%

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 25\%$$

$$V1 = 2500/100$$

$$V1 = 25\text{ml}$$

b. Konsentrasi 30%

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 30\%$$

$$V1 = 3000/100$$

$$V1 = 30\text{ml}$$

c. Konsentrasi 35%

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 35\%$$

$$V1 = 3500/100$$

$$V1 = 35\text{ml}$$

d. Konsentrasi 40%

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 40\%$$

$$V1 = 4000/100$$

$$V1 = 40\text{ml}$$

3. Prosedur Pengujian Ekstrak Daun Mengkudu Dalam Membunuh Lalat

Rumah *Musca Domestica*

- a. Siapkan 5 botol uji (4 untuk perlakuan dan 1 untuk kontrol)

- b. Isi botol uji tersebut menggunakan aquades dan ekstrak daun mengkudu. Untuk konsentrasi 25% (25 ml ekstrak + 75 ml aquades), konsentrasi 30% (30 ml + 70 ml aquades), konsentrasi 35% (35 ml + 65 ml aquades, konsentrasi 40% (40 ml + 60 ml aquades), dan untuk kontrol diisi dengan 100 ml aquades.
- c. Siapkan kandang uji yang telah diberi label berdasarkan konsentrasi.
- d. Lalat dimasukkan ke dalam kandang uji. Masing-masing kandang uji berisi 10 ekor lalat yang diambil secara acak.
- e. Menunggu selama satu menit dan selanjutnya dilakukan pengukuran dan pencatatan temperatur dan kelembaban udara.
- f. Semprotkan ekstrak daun mengkudu ke permukaan kandang uji. Amati dan catat kematian lalat rumah (*Musca domestica*) setelah 12 jam.

H. Pengolahan Data dan Analisis Data

Setelah dilakukan pengumpulan data perlakuan jumlah lalat rumah (*Musca domestica*) yang mati akibat efektivitas ekstrak daun mengkudu, dilanjutkan dengan pengolahan dan analisis data, kemudian melakukan editing dan tabulating data. Pada penelitian ini data dianalisis menggunakan software statistics *SPSS 26*.

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). Untuk mencari nilai mean dan atau rata-rata, median dan standar deviasi maka menggunakan *Descriptive Statictics*. Variabel yang diuji secara univariat adalah presentase lalat rumah 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 (independen) terhadap variabel terikat (dependen). Uji Regresi Linier adalah suatu metode statistika untuk mencari tahu hubungan antara variabel terikat (y) dengan satu atau lebih variabel bebas (x). Regresi linier merupakan salah satu model analisis sederhana dengan jenis data interval atau rasio. Variabel yang diuji dalam penelitian ini berjumlah satu variabel bebas dan satu variabel terikat, oleh karena itu menggunakan analisis Regresi Linier Sederhana.

c. Analisis Uji Toksisitas

Penentuan *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) digunakan uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) untuk melihat estimasi besar dosis atau konsentrasi yang dapat mengakibatkan mortalitas kematian lalat rumah sebesar 50% (LC₅₀).