

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen laboratorium, Penelitian eksperimen merupakan penelitian kausal sebab akibat yang pembuktiannya diperoleh melalui komparasi/perbandingan antara Kelompok eksperimen yang diberi perlakuan dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan (Jaedun, 2011). Serta menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), berdasarkan prosedur yang direkomendasikan oleh *World Health Organization Pesticides Evaluation Scheme* (WHOPES). Dan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* berdasarkan konsentrasi dan waktu kontak. Konsentrasi yang digunakan yaitu 0%, 4%, 8%, 12%, dan 16%. Dimana 0% digunakan sebagai kontrol dengan taraf waktu kontak 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam dengan dilakukan 2 (dua) kali pengulangan sehingga didapatkan 20 variasi perlakuan diantaranya sebagai berikut:

Tabel 3. 1

Variasi konsentrasi dan waktu kontak ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*

Waktu kontak	Konsentrasi ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> )				
	(A) 0%	(B) 4%	(C) 8%	(D) 12%	(E) 16%
4	A1	B1	C1	D1	E1
8	A2	B2	C2	D2	E2
16	A3	B3	C3	D3	E3
24	A4	B4	C4	D4	E4

## B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium politeknik Kesehatan Tanjungkarang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan waktu penelitian dilakukan pada bulan februari sampai dengan bulan Maret 2023.

## C. Subjek Penelitian

### 1. Populasi Penelitian

Populasi adalah keseluruhan subyek penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III atau IV yang didapat dari hasil rearing larva *Aedes aegypti* karena:

- a. Larva instar III dan IV relatif stabil pada pengaruh faktor eksternal.
- b. Larva instar III dan IV sudah memiliki tubuh yang lengkap.

### 2. Sampel penelitian

Sampel adalah bagian atau jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Sampel yang digunakan pada penelitian ini

adalah 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* pada setiap kelompok sebanyak 40 variasi, baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol mengikuti blok sampel. jumlah seluruh sampel yang digunakan yaitu dengan mengalikan besar sampel dikali variasi dan jumlah replikasi. Jumlah pengulangan dapat di hitung dengan menggunakan rumus Feedere (Maharani, 2016) sebagai berikut:

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

Keterangan:

t : jumlah perlakuan

r : jumlah replikasi (pengulangan)

15: derajat kebebasan umum

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

$$(20 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$19 r \geq 15$$

$$19 r \geq 15 + 19$$

$$19 r \geq 34$$

$$r \geq \frac{34}{19}$$

$$r \geq 1,78 \text{ di bulatkan jadi } 2$$

Maka dari hasil perhitungan rumus, didapatkan bahwa jumlah replikasi penelitian dilakukan sebanyak 2 kali sehingga jumlah perlakuan sebanyak 32 kali. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan maka di gunakan kontrol pada masing – masing perlakuan sebanyak 8 data non-perlakuan, sehingga akan di peroleh 40

data penelitian yang terdiri dari 32 data perlakuan dan 8 data non-perlakuan (kontrol), Sedangkan jumlah larva yang digunakan sebagai subyek penelitian adalah sebanyak 20 ekor, baik perlakuan maupun kontrol. Jadi jumlah keseluruhan larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan adalah sebanyak  $20 \times 2 \times 20 = 800$  ekor. Maka, jumlah larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah sebanyak 800 ekor larva.

Pemilihan ke dalam dua kelompok pada penelitian ini menggunakan randomisasi dengan cara pengundian dengan langkah – langkah diantaranya sebagai berikut:

1. Siapkan 40 potong kertas, dan tuliskan simbol – simbol yang menunjukkan perlakuan yang sudah di buat sebelumnya.
2. Bagi 20 kertas untuk blok sampel 1, dan 20 kertas untuk blok sampel ke 2.
3. Campurkan masing masing 20 kertas untuk blok sampel 1 dan 20 kertas untuk blok sampel 2, lakukan pengundian terlebih dahulu untuk blok sampel 1 dengan cara mengambil satu kertas lalu catat hasil yang di dapat dan lakukan seterusnya sampai kertas pengundian blok satu habis, dan di lanjutkan dengan pengundian blok sampel ke 2 sampai dengan selesai. Hasil randomisasi blok sampel disajikan sebagai berikut:

Tabel 3. 2

**Randomisasi Blok Sampel Replikasi 1**

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

Tabel 3. 3

**Randomisasi Blok Sampel Replikasi 2**

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

**D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas (Independent Variabel) penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) dengan taraf konsentrasi yaitu 0%, 4%, 8%, 12%, dan 16%. serta waktu kontak ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) pada 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam.
2. Variabel terikat (Dependent Variabel) penelitian ini adalah jumlah kematian larva *Aedes aegypti* setelah kontak dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*).
3. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah pH, dan suhu.

## E. Definisi Operasional

**Tabel 3. 4**  
**Definisi Operasional**

NO	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Konsentrasi ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> )	Jumlah ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> ) untuk perlakuan menggunakan etanol 96% dengan berbentuk larutan yang akan di gunakan.	Volumetri	Pengenceran	Persen (%) 4%, 8%, 12%, dan 16%	Interval
2	Waktu kontak	Lama sampel larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> kontak dengan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> ).	Stopwatch	Pengukuran	4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam.	Interval
3	Jumlah kematian Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Banyak nya Mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> yang mati setelah kontak dengan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> ) pada	Tally conter	Observasi	Jumlah larva yang mati	Rasio

		berbagai konsentrasi dan waktu.				
4	pH	Derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman pada media air masing – masing blok.	pH meter	Pengukuran	6 <7 >8	Interval
5	Suhu	Besaran yang menyatakan derajat panas dingin air pada media air habitat nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .	Thermometer	Pengukuran	Derajat celcius ( <sup>0</sup> C)	Rasio

## F. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan cara melakukan pengukuran pada setiap variabel. Metode pengumpulan data pada masing-masing variabel dijelaskan pada tabel dibawah ini:

**Tabel 3. 5**  
**Teknik Pengumpulan Data**

No	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1	Konsentrasi ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle Linn</i> )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengukuran</li> <li>2. Alat ukur volumetri</li> <li>3. Daun sirih di peroleh dari halaman rumah di kotaagung, kabupaten tanggamus</li> <li>4. Ekstrasi daun sirih diperoleh dengan menggunakan etanol 96 %</li> <li>5. konsentrasi ekstrak dihitung menggunakan rumus : <math>M_1V_1 = M_2V_2</math>.</li> </ol>
2	Waktu kontak	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengukuran</li> <li>2. Alat ukur stopwatch</li> <li>3. Variasi waktu kontak 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam.</li> </ol>
3	Jumlah kematian larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Observasi</li> <li>2. Alat ukur Tally counter</li> <li>3. Pengamatan dilakukan setiap 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam</li> </ol>
4	pH	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengukuran</li> <li>2. Alat ukur pH meter</li> <li>3. Di ukur pada masing – masing blok</li> </ol>
5	Suhu	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengukuran</li> <li>2. Alat ukur thermometer</li> <li>3. Di ukur pada masing – masing blok</li> </ol>



## **G. Tahap Penelitian**

### 1. Tahap Persiapan

#### a. Alat:

- 1) Neraca analitik
- 2) Beaker glass
- 3) Kertas saring
- 4) Labu ukur
- 5) Pipet ukur
- 6) Pipet volume
- 7) Water bath
- 8) Spatula
- 9) Blender/mortal
- 10) Pipet tetes
- 11) Stop watch
- 12) pH meter
- 13) Thermometer

#### b. Bahan:

- 1) Daun sirih
- 2) Larva *Aedes aegypti*
- 3) Etanol 96%
- 4) Aquades

## 2. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih

- a. Daun sirih yang sudah tua (*Piper betle Linn*) yang telah didapatkan dari memetik di halaman rumah pribadi dibersihkan menggunakan air yang mengalir.
- b. kemudian dikeringkan atau di angin – angin kan di suhu ruangan sampai kandungan airnya berkurang.
- c. Potong kecil – kecil daun sirih menggunakan pisau
- d. Setelah itu keringkan kembali dengan cara penjemur di suhu ruangan
- e. Haluskan daun sirih yang sudah kering menggunakan belender atau mortal hingga menjadi serbuk, lalu saring.
- f. timbang serbuk (*simplisia*) dengan berat 100 gram
- g. Maserasi serbuk daun sirih dengan cara merendam daun sirih di dalam larutan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (200 gr serbuk: 2L etanol; 96%) , di aduk selama 5 menit.

Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar (Padmasari et al., 2012). atau biasa dikatakan berfungsi untuk menyaring zat – zat kimia yang ada di dalam daun siri (*simplisia*) Sehingga zat kimia nya keluar semua secara maksimal, setelah itu etanol yang di gunakan di buang dengan menggunakan *water bath* dan yang di hasilkan murni ekstrak daun sirih.

- h. setelah itu diam kan selama 1 sampai 3 hari pada suhu ruangan dan di aduk kembali setiap 6 jam, lalu ditutup menggunakan kertas atau plastik dan hindari dari sinar matahari.
- i. Setelah direndam selama 1 sampai 3 hari, kemudian saring hasil rendaman menggunakan kertas saring dengan bantuan corong, lalu masukkan kedalam wadah botol/beaker glass.
- j. Kemudian pekatkan rendaman daun sirih menggunakan *water bath* dengan suhu 40 – 50°C hingga volume berkurang dan diperoleh hasil ekstrak daun sirih.

### 3. Tahap Pembuatan Larutan

Volume ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan berbagai macam konsekntrasi yang diperlukan dapat menggunakan rumus Pengenceran (Suherti, 2016) sebagai berikut:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan:

$V_1$  = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

$M_1$  = Konsentrasi ekstrak daun sirih yang tersedia (%)

$V_2$  = Volume larutan (air+ekstrak) yang dingin (ml)

$M_2$  = Konsentrasi ekstrak daun sirih (%)

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi perlakuan yaitu: 0% kontrol, 4%, 8%, 12%, dan 16% Dilakukan dengan 200 ml aquadest.

Perhitungan:

a. Konsentrasi 4%

Diketahui  $M_1 = 100\%$

$V_2 = 200 \text{ ml}$

$M_2 = 4\%$

Ditanya  $V_1 = \dots\dots\dots?$

Jawab :  $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$

$V_1 \times 100 = 200 \times 4$

$V_1 = \frac{4}{100} \times 200$

$V_1 = 8 \text{ ml}$

Jadi, 8 ml larutan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*)

dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 192 ml.

b. Konsentrasi 8%

Diketahui  $M_1 = 100\%$

$V_2 = 200 \text{ ml}$

$M_2 = 8\%$

Ditanya  $V_1 = \dots\dots\dots?$

Jawab :  $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$

$V_1 \times 100 = 200 \times 8$

$$V_1 = \frac{8}{100} \times 200$$

$$V_1 = 16 \text{ ml}$$

Jadi, 16 ml larutan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 184 ml.

c. Konsentrasi 12%

Diketahui  $M_1 = 100\%$

$$V_2 = 200 \text{ ml}$$

$$M_2 = 12\%$$

Ditanya  $V_1 = \dots\dots\dots?$

Jawab :  $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$

$$V_1 \times 100 = 200 \times 12$$

$$V_1 = \frac{12}{100} \times 200$$

$$V_1 = 24 \text{ ml}$$

Jadi, 24 ml larutan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 176 ml.

d. Konsentrasi 16%

Diketahui  $M_1 = 100\%$

$$V_2 = 200 \text{ ml}$$

$$M_2 = 16\%$$

Ditanya  $V_1 = \dots\dots\dots?$

Jawab :  $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$

$$V_1 \times 100 = 200 \times 16$$

$$V_1 = \frac{16}{100} \times 200$$

$$V_1 = 32 \text{ ml}$$

Jadi, 32 ml larutan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 168 ml.

4. Tahap persiapan larva *Aedes Aegypti*
  - a. Subjek yang diteliti adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* hasil pembiakan dari telur
  - b. Telur yang diperoleh di beli dari balai Loka Litbang P2B2 Pangandaran Batu Raja.
  - c. Siapkan air , yang berasal dari tempat penampungan air bersih pada bak mandi. Untuk mendapatkan kondisi air yang sesuai dengan kehidupan larva, ukur suhu dan Ph air tempat pengembang biakan telur nyamuk, dengan suhu 25 – 30<sup>0</sup>C, dan Ph 7 – 8. Ukuran suhu dan Ph tersebut adalah ukuran yang sering di temukannya kehidupan larva *Aedes aegypti*.
  - d. Masukkan telur nyamuk *Aedes aegypti* ke dalam wadah berisi air yang sudah di siap kan sebelumnya.

- e. Lalu telur nyamuk *Aedes aegypti* dipelihara dalam baskom atau nampan plastik dan diberi penutup kain berlubang kecil di atasnya.
- f. Setelah 1 – 3 hari telur tersebut menetas menjadi larva, telur yang sudah menetas di beri makan dengan *fish food*.
- g. larva yang sudah berkembang kita ambil, akan tetapi hanya larva instar III atau IV, dengan menentukan larva yang panjangnya sekitar 4-6 mm yang akan digunakan.

#### 5. Pelaksanaan penelitian

##### a. Alat

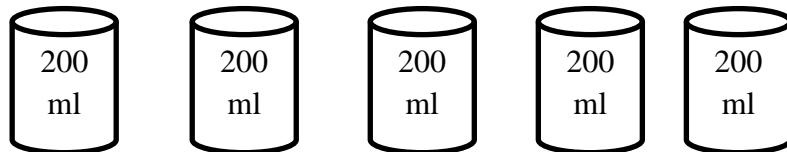
- 1) Beaker glass
- 2) Pipet ukur
- 3) Pipet tetes
- 4) Stop watch

##### b. Bahan

- 1) Larva *Aedes aegypti*
- 2) Ekstrak daun sirih
- 3) Aquades 200 ml tiap wadah

## c. Cara kerja

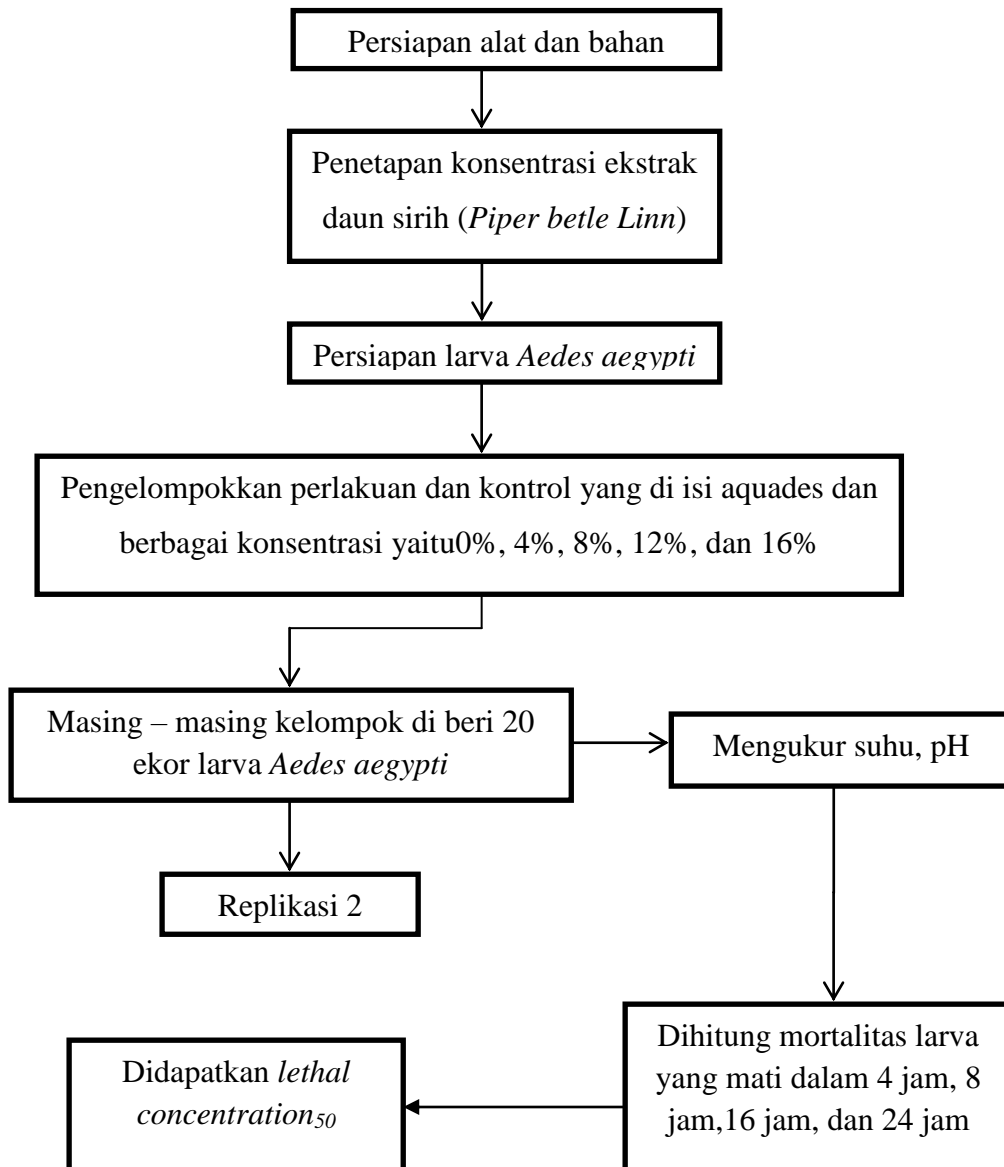
- 1) Siapkan 5 wadah yang akan digunakan untuk diisi dengan aquades sebanyak 200 ml/wadah, dan beri tanda batas pada 200ml/wadah tersebut.



- 2) Sebelum wadah tersebut diisi dengan aquades, terlebih dahulu masukkan 8 ml ekstrak kental daun sirih sebagai konsentrasi 4% pada wadah I, 16 ml ekstrak kental daun sirih sebagai konsentrasi 8% pada wadah II, 24 ml ekstrak kental daun sirih sebagai konsentrasi 12% pada wadah III, 32 ml ekstrak kental daun sirih sebagai konsentrasi 16% pada wadah IV, dan untuk wadah V tidak di tambah larutan apapun sebagai kontrol.
- 3) Kemudian setelah ekstrak kental dimasukkan ke masing – masing wadah, lalu tambahkan pada masing – masing wadah dengan aquades hingga tanda batas 200 ml. untuk wadah I tambahkan 192 ml aquades, wadah II tambahkan 184 ml aquades, wadah III tambahkan 176 ml aquades, wadah IV tambahkan 168 ml aquades, dan untuk wadah V tambahkan 200 ml aquades tanpa penambahan ekstrak daun sirih.
- 4) Setelah itu masukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* kemasing – masing wadah (pastikan semua larva dalam keadaan hidup)



- 5) amati perkembangan larva dengan waktu kontak 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam.



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

Analisis univariat digunakan pada penelitian diskriptif dan analitik. Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Analisis univariat dilakukan menurut jenis data baik kategorik maupun numerik. Untuk data kategorik dapat berupa distribusi frekuensi : presentase dari setiap variabel yang diteliti. Untuk data numerik, digunakan nilai mean atau rata-rata, median dan standar deviasi (Heryana, 2020). Variabel yang diuji secara univariat adalah presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah kontak dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*). Pada setiap konsentrasi dan masing – masing waktu pengamatan.

### b. Analisis bivariat

Analisis bivariat adalah analisis statistik yang dilakukan untuk menguji hipotesis antara dua variabel, untuk memperoleh jawaban apakah kedua variabel tersebut ada hubungan atau berkorelasi (Heryana, 2020). 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. Variabel yang diuji dalam Regresi Linier adalah konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) dengan larva nyamuk *Aedes*

*aegypti* yang mati, waktu pengamatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) dengan larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati.