

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen murni (true eksperiment) sedangkan untuk pelaksanaan penelitian menggunakan rancangan post test only control group yaitu suatu rancangan percobaan yang terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Perlakuan hanya diberikan kepada kelompok eksperimen (Kusumawati et al., 2018).

Eksperimen ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* Instar III berdasarkan konsentrasi ekstrak dan serbuk waktu kontak. Variabel pada penelitian adalah konsentrasi ekstrak dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 0%, 10%, 15%, dan 20% dan waktu kontak selama 2 jam (per 15 menit) sehingga diperoleh 4 variasi.

#### **B. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang di kembangkan di kampus Poltekkes Jurusan Kesehatan Lingkungan yang berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan.

## 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah keseluruhan dari populasi. Dalam penentuan terhadap sampel penulis menentukan jumlah sampel pada tiap *beaker glass* di isi 20 ekor larva *Aedes Aegypti* instar III. Jadi larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 960 larva *Aedes aegypti* instar III. Untuk menghindari kesalahan sekecil mungkin, maka banyaknya ulangan dan perlakuan dalam eksperimen dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Kusumawati et al., 2018):

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

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

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

$$3(r-1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 15 + 3$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 18 \div 3$$

$$r \geq 6$$

$$r = 6$$

Keterangan :

r = jumlah replikasi / pengulangan

t = jumlah perlakuan = 4 variasi

15 = derajat kebebasan umum

Hasil perhitungan menggunakan rumus diatas, diperoleh banyaknya pengulangan minimal adalah 6 kali. Maka, peneliti akan melakukan pengulangan sebanyak 6 kali.

### C. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan waktu pelaksanaan penelitian pada bulan Maret tahun 2023.

### D. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data primer digunakan dengan cara observasi yaitu pengamatan secara langsung pada uji coba experiment sesuai dengan prosedur yang terencana meliputi melihat dan mencatat jumlah ataupun aktivitas tertentu yang berkaitan dengan masalah yang diteliti, seperti pencatatan yang sistematis pada gejala-gejala yang tampak selama proses penelitian pada objek yang diteliti, yaitu mencatat jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang mati setelah diberi ekstrak dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada konsentrasi yang berbeda dan lama waktu yang berjalan.

### E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas atau *independent variable* penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20% dan kontrol.
2. Variabel terikat atau *dependent variable* penelitian ini adalah jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati.
3. Variabel kendali penelitian ini adalah suhu, pH, dan volume air, jumlah larva dan larva hidup.

## F. Tahap Penelitian

### 1. Persiapan Penelitian

#### a. Alat dan Bahan

##### 1) Alat

- a) Neraca analitik
- b) Pipet ukur
- c) Sendok
- d) Saringan kain
- e) Blender/Penumbuk
- f) pH Meter
- g) Thermometer
- h) Water bath
- i) Alat tulis

##### 2) Bahan

- a) Daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang berwarna hijau tua
- b) Etanol 96% untuk mengeluarkan zat aktif didalam daun salam
- c) Aquades untuk mengencerkan konsentrasi
- d) Air kran untuk mencuci daun

#### b. Prosedur kerja pembuatan ekstrak dan serbuk daun salam

##### 1) Prosedur kerja pembuatan ekstrak daun salam

- a) Siapkan alat dan bahan

- b) Potong kecil-kecil daun salam dengan memisahkan tulang daun karena tulang daun dapat menghambat pelumatan
- c) Kemudian cuci bersih daun salam menggunakan air mengalir
- d) Kemudian dilakukan pengeringan daun salam untuk mengurangi air sisa cucian
- e) Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari dan jangan sampai terkena paparan sinar matahari langsung agar tidak mengurangi/menghilangkan kandungan dalam daun salam
- f) Kemudian haluskan menggunakan blender, untuk daun salam yang kecepatan 3 , hasil yang didapatkan adalah 27 gram bubuk daun salam dengan waktu pembelenderan selama 2 menit 30 detik
- g) Serbaun salam yang telah diblender kemudian dimasukkan kedalam wadah
- h) Setelah itu timbang hasil blender tersebut sebanyak 1000 gram kemudian maserasi dengan 3.000 ml atau 3L etanol 96% atau perbandingan 1:3 (serbuk+pelarut)
- i) Maserasi dilakukan selama 72 jam, pada suhu 20-27°C, tersimpan dalam wadah tertutup dan terlindungi dari cahaya langsung bertujuan untuk mencegah reaksi katalisis cahaya atau perubahan warna
- j) Kemudian, saring hasil rendaman maserasi menggunakan saringan kain untuk memisahkan padatan

- k) Untuk pemekatan ekstrak, diuapkan hasil penyaringan tersebut menggunakan water bath dengan suhu 60°C selama 1 jam, penggunaan pemanas dengan ditujukan untuk menghilangkan atau menguapkan pelarut yang tersisa pada ekstrak
- l) Setelah dewaterbath ekstrak daun salam akan menyusut dari 750 ml menjadi 700 ml
- m) Kemudian ekstrak yang diperoleh dimasukkan kedalam wadah/botol
- n) Hasil ekstrak daun salam yang telah kental kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan
- o) Lalu tentukan konsentrasi ekstrak daun salam yang akan digunakan. Konsentrasi tersebut 0%, 10%, 15%, dan 20%.
- p) Volume ekstrak yang dibutuhkan

Volume ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan berbagai macam konsentrasi yang diperlukan dapat menggunakan rumus 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 (aquadest+ekstrak) yang diinginkan (ml)

$M_2$  = Konsentrasi ekstrak daun sirih yang akan dibuat (%)

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi perlakuan : 0%, 10%, 15%, dan 20%. Dilakukan dengan 100 ml aquades.

a) Konsentrasi 0% (Kontrol)

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 0$$

$$V_1 = \frac{0}{100}$$

$$V_1 = 0 \text{ ml}$$

Jadi, pada konsentrasi 0% tidak menggunakan ekstrak daun salam.

b) Konsentrasi 10%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 10$$

$$V_1 = \frac{1000}{100}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Jadi, 10 mL ekstrak daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 90 ml.

c) Konsentrasi 15%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 15$$

$$V_1 = \frac{1500}{100}$$

$$V_1 = 15 \text{ ml}$$

Jadi, 15 ml ekstrak daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 85 ml.

d) Konsentrasi 20%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 20$$

$$V_1 = \frac{2000}{100}$$

$$V_1 = 20 \text{ ml}$$

Jadi, 20 mL ekstrak daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 80 mL.

2) Prosedur kerja pembuatan serbuk daun salam

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Kemudian cuci bersih daun salam menggunakan air mengalir
- c) Potong kecil-kecil daun salam dengan memisahkan tulang daun karena tulang daun dapat menghambat pelumatan
- d) Kemudian dilakukan pengeringan daun salam untuk mengurangi air sisa cucian
- e) Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari dan jangan sampai terkena paparan sinar matahari langsung agar tidak mengurangi/menghilangkan kandungan dalam daun salam
- f) Kemudian haluskan menggunakan blender, untuk salam yang diblender sebanyak 32 gram dan diblender dengan kecepatan 3,



hasil yang didapatkan adalah 27 gram bubuk daun salam dengan waktu pembelenderan selama 2 menit 30 detik

g) Lalu tentukan konsentrasi serbuk daun salam yang akan digunakan. Konsentrasi tersebut 0%, 10%, 15% dan 20%

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi perlakuan : 0%, 10%, 15% dan 20%. Dilakukan dengan 100 ml aquades.

a) Konsentrasi 0% (Kontrol)

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 0$$

$$V_1 = \frac{0}{100}$$

$$V_1 = 0 \text{ gram}$$

Jadi, pada konsentrasi 0% tidak menggunakan serbuk daun salam.

b) Konsentrasi 10%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 10$$

$$V_1 = \frac{1000}{100}$$

$$V_1 = 10 \text{ gram}$$

Jadi, 10 gram serbuk daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 100 ml.

c) Konsentrasi 15%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 15$$

$$V_1 = \frac{1500}{100}$$

$$V_1 = 15 \text{ gram}$$

Jadi, 15 gram serbuk daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 100 ml.

d) Konsentrasi 20%

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

$$V_1 \times 100 = 100 \times 20$$

$$V_1 = \frac{2000}{100}$$

$$V_1 = 20 \text{ gram}$$

Jadi, 20 gram serbuk daun salam dilarutkan menggunakan aquades sebanyak 100 mL.

c. Prosedur pengiriman telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III

- 1) Telur nyamuk *Aedes aegypti* dikirimkan dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan
- 2) Dengan SOP pengiriman telur nyamuk *Aedes aegypti*
- 3) Pemesanan telur *Aedes aegypti* minimal 2000 butir
- 4) Telur *Aedes aegypti* dikirimkan dalam media tempat penyimpanan telur *Aedes aegypti* yang diletakkan dipermukaan kertas yang kering dilapisi plastik dan ditutup dengan kertas kopi
- 5) Pengiriman dari Batu Raja ke Bandar Lampung selama 4 hari

- 6) Setelah sampai selanjutnya peneliti melakukan penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti*
  - 7) Telur dapat bertahan berbulan-bulan pada suhu 20°C - 42°C dalam keadaan kering.
- d. Prosedur penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* instar III
- 1) Populasi dalam penelitian ini adalah semua larva yang di kembangkan dari telur dan didapatkan dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan
  - 2) Sampel diambil dengan teknik *purposive sampling*, yaitu metode pemilihan sampel berdasarkan sifat atau ciri-ciri tertentu yang berkaitan dengan karakteristik populasi, yaitu: Pada sampel ini diambil larva instar III dengan pertimbangan alat organ larva sudah lengkap
  - 3) Media tempat penyimpanan telur *Aedes aegypti* diletakkan dipermukaan kertas yang kering
  - 4) Telur yang akan ditetaskan menjadi larva diletakan dalam sebuah wadah yang berisi air bersih dengan suhu kamar 20-27°C dan ditutup menggunakan kain kasa
  - 5) Telur yang ditetaskan dalam sebuah wadah yang berisi air bersih akan tenggelam
  - 6) Setelah telur diletakan di wadah yang berisi air, waktu yang dibutuhkan untuk perkembangan telur menjadi larva instar 1 terjadi selama 1-2 hari

- 7) Larva yang menetas diberi makan *fish food* setiap hari sampai larva siap digunakan
- 8) Kemudian instar I menjadi instar II terjadi selama 2-3 hari
- 9) Lalu instar II menjadi instar III terjadi selama 2-3 hari
- 10) Larva nyamuk aedes aegypti instar III inilah yang dipakai penelitian penulis
- 11) Lama siklus hidup telur menjadi larva instar III yaitu 8-9 hari
- 12) Kemudian lama siklus hidup untuk telur menjadi nyamuk dewasa yaitu 15 hari
- 13) Namun lama siklus hidup berkembang biak nyamuk tergantung pada beberapa faktor seperti suhu.

## 2. Pelaksanaan Penelitian

### a. Alat dan Bahan

- 1) Alat
  - a) Beaker glass / gelas plastik
  - b) Stopwatch
  - c) Ph meter
  - d) Label , alat tulis dan buku tulis
  - e) Sendok Serbuk
  - f) Kain kasa
  - g) Benang


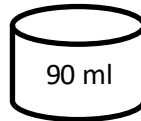
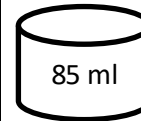
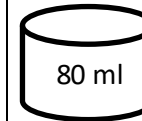
## 2) Bahan

- a) Ekstrak dan Serbuk daun salam (*syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 0%, 10%, 15%, 20% dan Aquades
- b) Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III

## b. Prosedur kerja pembuatan larutan (Ekstrak)

- 1) Siapkan beaker glass /gelas plastik yang akan digunakan untuk diisi masing-masing 100 ml air (Ekstrak daun salam dan aquades)

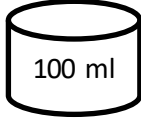
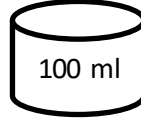


Tabel 3. 1  
Masing-masing beaker glass berisi 100 ml air

No.	Waktu Kontak	Konsentrasi			
		0%	10%	15%	20%
1.	2 jam (per 15 menit)				

- 2) Masukkan 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ke dalam masing-masing beaker glass/ gelas plastik
- 3) Isi takaran beaker glass tersebut menggunakan aquades dan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*)
  - a) Untuk 0% tambahkan 0 ml ekstrak daun salam dan 100 ml aquades
  - b) Untuk 10% tambahkan 10 ml ekstrak daun salam dan 90 ml aquades
  - c) Untuk 15% tambahkan 15 ml ekstrak daun salam dan 85 ml aquades

- d) Untuk 20% tambahkan 20 ml ekstrak daun salam dan 80 ml aquades
- 4) Masukkan Aquades terlebih dahulu kedalam masing-masing beaker glass, kemudian siapkan semua konsentrasi ekstrak daun salam dan masukkan ekstrak bersamaan kedalam masing-masing beaker glass
  - 5) Waktu pengamatan dihitung dari mulai ekstrak dimasukkan kedalam masing-masing beaker glass
  - 6) Ukur suhu dan pH pada masing-masing beaker glass/ gelas plastik, dalam variable kendali ini harus benar-benar diperhatikan agar tidak menimbulkan potensi kekeliruan dan hasil yang berbeda
  - 7) Setelah itu amati dan catat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, Ciri-ciri larva yang mati ditemukan dalam keadaan tubuh yang membengkok dengan kondisi mengapung di permukaan ekstrak, waktu pengamatan selama 2 jam (per 15 menit)
  - 8) Lakukan pengulangan sebanyak 6x dan hitung rata-rata kematian kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III
  - 9) Dalam melakukan penelitian dapat dibantu oleh rekan yang ahli dalam bidang kesehatan lingkungan atau dalam bidang penelitian ini.
- c. Prosedur kerja pembuatan larutan (serbuk)
- 1) Siapkan beaker glass /gelas plastik yang akan digunakan untuk diisi masing-masing 100 ml air (Serbuk daun salam dan aquades)

Tabel 3. 2  
Masing –masing beaker glass berisi 100 ml air

No.	Waktu Kontak	Konsentrasi			
		0%	10%	15%	20%
1.	2 jam  (per 15 menit)				

- 2) Masukkan 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ke dalam masing-masing beaker glass/ gelas plastik menggunakan sendok, pastikan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III masih bergerak/masih hidup
- 3) Isi takaran beaker glass tersebut menggunakan aquades dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*)
  - a) Untuk 0% tambahkan 0 gram serbuk daun salam dan 100 ml aquades
  - b) Untuk 10% tambahkan 10 gram serbuk daun salam dan 100 ml aquades
  - c) Untuk 15% tambahkan 15 gram serbuk daun salam dan 100 ml aquades
  - d) Untuk 20% tambahkan 20 gram serbuk daun salam dan 100 ml aquades
- 4) Masukkan masing masing konsentrasi serbuk daun salam ke dalam kain kasa lalu diikat
- 5) Masukkan Aquades terlebih dahulu kedalam masing-masing beaker glass, kemudian siapkan semua konsentrasi serbuk daun salam yang

sudah dimasukkan ke dalam kain kasa yang diikat dan masukkan bersamaan kedalam masing-masing beaker glass

- 6) Waktu pengamatan dihitung dari mulai serbuk dimasukkan kedalam masing-masing beaker glass
- 7) Ukur suhu dan pH pada masing-masing beaker glass/ gelas plastik, dalam variable kendali ini harus benar-benar diperhatikan agar tidak menimbulkan potensi kekeliruan dan hasil yang berbeda
- 8) Setelah itu amati dan catat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, Ciri-ciri larva yang mati ditemukan dalam keadaan tubuh yang membengkok dengan kondisi mengapung di permukaan ekstrak, waktu pengamatan selama 2 jam (per 15 menit)
- 9) Lakukan pengulangan sebanyak 6x dan hitung rata-rata kematian kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III
- 10) Ekstrak Daun salam yang terpakai sebanyak 270 ml
- 11) Dalam melakukan penelitian dapat dibantu oleh rekan yang ahli dalam bidang kesehatan lingkungan atau dalam bidang penelitian ini.



### C. Pengolahan dan Analisis Data

Berikut pengolahan data dan analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini :

#### 1. Pengolahan Data

- a. Editing yaitu adalah mengkoreksi kembali data sedemikian rupa sehingga diperoleh data yang sebenarnya. Data atau informasi yang dikumpulkan dalam buku catatan harus dibaca kembali, jika masih ada hal-hal yang tidak benar atau meragukan di dalamnya, harus diperbaiki.
  - b. Tabulating yaitu data yang diperoleh dari pengamatan dikelompokkan kemudian dibuat menjadi tabel/grafik.
2. Analisa Data Data yang diperoleh kemudian di analisa secara univariat. Analisa univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah diberikan ekstrak dan serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*).