

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena seluruh unit percobaan berada dalam kondisi lingkungan yang relatif homogen dan tidak memerlukan pengelompokan. Rancangan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan ekstrak jeruk nipis terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* secara obyektif dengan pemberian perlakuan secara acak pada setiap unit percobaan.

B. Subjek dan Sampel Penelitian

1. Subjek

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Batu Raja, Sumatera Selatan.

2. Populasi

Populasi dalam penelitian ini terdiri dari larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III nyamuk *Aedes aegypti*, larva ini di ambil secara acak dengan jumlah sampel adalah 80 larva.

C. Lokasi Dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilakkan dilaboratorium Poltekes Tanjung Karang Jurusan Kesehatan Lingkungan.

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada mei 2025

D. Variable penelitian

1. Variabel bebas atau independent variable penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan konsentrasi 0% (control), 5%, 10%, 15% Dan larva *Aedes aegypti*.
2. Variable terikat atau dependent variable penelitian ini adalah jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati.

E. Pengumpulan Data

Teknik pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini data primer pengumpulan data secara langsung yang diperoleh dari perhitungan jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*, pada setiap wadah jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*).

F. Tahap penelitian

1. Alat dan bahan :

a. Alat

1. Neraca analitik
2. Pipet ukur
3. Gelas ukur
4. Batang pengaduk
5. Blender

b. Bahan

1. Kulit buah jeruk nipis
2. Ethanol 96%
3. Larva *Aedes aegypti*

4. Aquades

2. Pembuatan ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

- a) Cuci kulit buah jeruk nipis menggunakan air hingga bersih.
- b) Lalu di keringkan dengan cara di angin anginkan tanpa terkena sinar matahari selama lima hari.
- c) Setelah kering, di haluskan menggunakan blender dan di timbang 200gr bubuk sebagai ekstrak.
- d) Kemudian maserasi kulit buah jeruk nipis menggunakan 2.000ml etanol 96% di dalam labu ukur tertutup selama 24 jam.
- e) Selanjutnya di saring menggunakan kertas saring dan di lakukan penguapan menggunakan waterbatch hingga mengental.
- f) Cairan kental selanjutnya digunakan sebagai larutan induk (100%) ekstrak kulit buah jeruk nipis.

3. Cara Raering Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Menurut penelitian (Putri & Yushananta, 2022) :

- a) Proses pembiakan dimulai dengan pengumpulan telur nyamuk *Aedes aegypti*.
- b) Setelah telur diperoleh, telur tersebut akan ditetaskan dan dilakukan identifikasi larva berdasarkan bentuk sifonnya.
- c) Larva yang telah terpilih akan dipelihara hingga tumbuh menjadi dewasa dan bertelur.
- d) Larva-larva tersebut diberi pakan berupa pakan ikan yang dihaluskan, sedangkan nyamuk dewasa diberi makanan berupa darah marmot dan air gula.
- e) Selanjutnya, larva akan berkembang menjadi pupa dan akhirnya menjadi nyamuk dewasa.
- f) Terakhir, telur dari nyamuk dewasa akan ditetaskan hingga menjadi larva instar III.

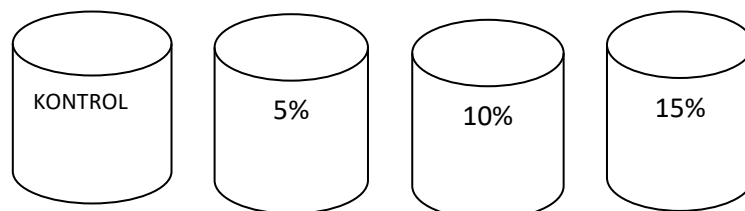
4. Cara Melakukan Bioassay

Menurut WHO (2016), langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a) Pertama, jentik nyamuk diuji dengan berbagai konsentrasi bahan uji dan kontrol untuk menentukan rentang aktivitas bahan tersebut.
- b) Setelah mengidentifikasi tingkat kematian larva pada rentang konsentrasi yang luas, rentang yang lebih sempit digunakan untuk menentukan nilai LD90.
- c) Sebanyak 25 larva instar III dipindahkan menggunakan saringan.
- d) Larva tersebut kemudian dimasukkan ke dalam cangkir sekali pakai atau beaker gelas, masing-masing berisi 100 ml air.
- e) Kedalaman air dalam cangkir harus dijaga antara 5 cm dan 10 cm, karena kedalaman yang lebih besar dapat menyebabkan kematian larva yang tidak diinginkan.

5. Prosedur kerja pembuatan larutan (Ekstrak)

- 1) Siapkan beaker gelas yang terisi aquades 100ml



- 2) Masukkan 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ke dalam masing-masing beaker gelas.
- 3) Isi takaran beaker gelas menggunakan aquadest dan ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)
 - a) Untuk 0% tambahkan 0ml ekstrak kulit buah jeruk nipis dan 100ml aquades.
 - b) Untuk 5% tambahkan 15ml ekstrak kulit buah jeruk nipis dan 95ml aquades.
 - c) Untuk 10% tambahkan 15ml ekstrak kulit buah jeruk nipis dan 90ml aquades.

- d) Untuk 15% tambakan 15ml ekstrak kulit buah jeruk nipis dan 85ml aquades.
- 4) Lalu masukan aquades terlebih dahulu ke dalam masing- masing beaker gelas, kemudian siapkan semua konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis dan masukan ekstrak bersamaan ke dalam masing-masing beaker gelas.
- 5) Waktu pengamatan dimulai dari saat ekstrak dimasukkan ke dalam setiap beaker glas.
- 6) Variabel kendali ini harus diperhatikan dengan cermat untuk menghindari potensi kesalahan dan hasil yang tidak konsisten.

Selanjutnya, amati dan catat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, dengan ciri-ciri tenggelam ke dasar wadah, tidak bergerak, dan tidak merespons rangsangan berupa sentuhan menggunakan lidi pada bagian sifon, waktu pengamatan selama 48 jam

G. Pengolahan Data Dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. Editing

Editing yaitu mengkoreksi kembali data data sehingga diperoleh data sebenarnya. Data atau keterangan yang telah dibutuh dalam record book perlu dibaca sekali lagi apa bila masih terdapat hal hal yang salah atau meragukan diperbaiki

b. Coding

Coding yaitu pemberian kode pada aspek yang diteliti agar tidak terjadi kesalahan dalam pengolahannya. Mengubah data berbentuk kalimantan/huruf menjadi suatu data angka atau bilangan.

c. Tabulating

Merupakan kegiatan memasukkan data-data dari hasil penelitian pengujian larva nyamuk menggunakan ekstrak kulit buah jeruk manis dan jeruk nipis yang masuk kedalam tabel yang sesuai dengan kriteria kelompok

2. Analisis Data

Analisa Data yang diperoleh kemudian di analisa secara univariat dan Analisis Regresi Probit (Probit Regression Analysis). Analisa univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan presentase larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah diberikan ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sedangkan digunakan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan respon kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. Melalui uji probit, dapat dihitung nilai LD₉₀ (Lethal Dose 90%), yaitu konsentrasi yang efektif membunuh 90% populasi larva.