

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen, yaitu melakukan penelitian untuk mengetahui uji ekstrak daun sirih sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* dengan metode ekstrak maserasi.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Lingkungan

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei tahun 2025

C. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah daun sirih yang segar dan bersih kemudian dibuat ekstrak lalu diencerkan dalam konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1% . Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Larva ini diambil secara acak dan jumlah sampel adalah 80 larva.

D. Prosedur Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang dihasilkan dari uji coba efektivitas kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan ekstrak daun sirih hijau dengan berbagai tingkat

konsentrasi dan jumlah kematian larva berdasarkan periode waktu. Data yang dikumpulkan dicatat dalam bentuk tabel.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah pisau, talenan, blender, wadah, pipet, cawan petridis, timbangan, stopwatch, tally counter, senter, botol reagen, corong gelas, corong pisah, erlenmeyer, dan kertas saring

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah larva instar III *Aedes aegypti*, ekstrak daun sirih, etanol 96%, air, aquades.

F. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Simplisia Daun Sirih

Daun sirih dicuci hingga bersih dan dikeringkan menggunakan tisuue dan dipotong kecil kecil. Selanjutnya ditimbang sebanyak 300 gram lalu daun sirihdikeringkan dengan cara ditutup kain hitam dan dijemur dibawah sinar mataharisecara tidak langsung atau bisa menggunakan oven dengan suhu 45-60°C. Daun sirih yang telah kering lalu dihaluskan menggunakan *blender* serta diayak sehingga menjadi bentuk serbuk dan disimpan dalam wadah yang kering dan tertutup (Lady Yunita Handoyo dan Pranoto, 2020)

2. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dengan Metode Maserasi

Pembuatan ekstrak air daun sirih di Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Tanjungkarang dengan proses pengekstraksian simplisia daun sirih dengan metode maserasi menggunakan pelarut air.

1. Simplisia kering daun sirih diblender hingga halus.
2. Dimasukkan 1500 gram simplisia yang telah halus ke dalam botol berwarna hitam, ditambahkan larutan air hingga simplisia terendam air.
3. Simplisia dimaserasi sebanyak 3 kali selama 3 hari hingga maserat yang diperoleh jernih.
4. Setelah dimaserasi, kemudian disaring hingga didapatkan maserat.
5. Maserat yang didapat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak agak kental
6. Ekstrak kemudian disimpan pada wadah berbahan gelas yang steril, bersih, dan kering.
7. Ekstrak diencerkan dengan varian konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1% menggunakan aquadest steril dengan rumus pengenceran :
(Manu, 2013)

$$V_1 \times \%_1 = V_2 \times \%_2$$

Keterangan :

V1 = Volume larutan uji yang dipipet (ml)

% 1 = Konsentrasi larutan uji (100%)

V2 = Volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest

%2 = Konsentrasi yang akan dibuat (%)

3. Pembuatan Konsentrasi Bahan Uji

1. Larutan ekstrak 100% yang sudah dipanaskan lalu diencerkan menjadi konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1%.
2. Rumus pengenceran ekstrak air daun sirih yang digunakan adalah $V_1 \times \%_1 = V_2 \times \%_2$.
3. Penyediaan sampel larva dengan melakukan penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* menjadi larva kemudian ditunggu hingga berkembang menjadi larva instar III.
4. Uji efektivitas ekstrak air daun sirih dengan konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1%.. Larva diletakkan ke dalam gelas plastik yang berisi berbagai konsentrasi daun sirih. Data yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva instar III *Aedes aegypti* yang mati di setiap wadah. Perhitungan larva yang mati dilakukan selama 48 jam pada masing-masing konsentrasi ekstrak air daun sirih.

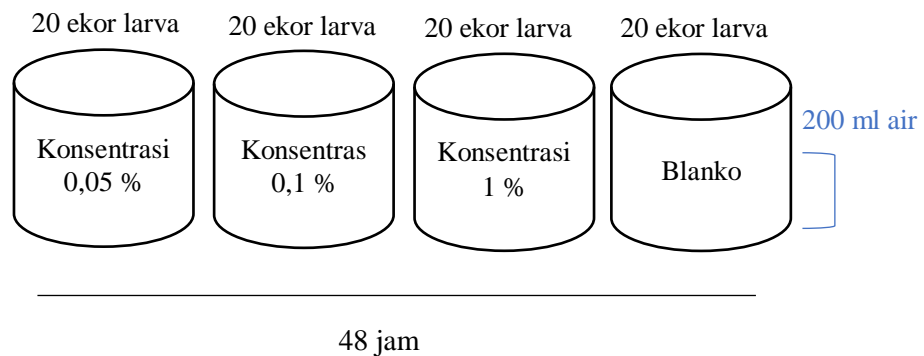
4. Bioassay

- a. Siapkan wadah yang telah terisi air untuk meletakkan sampel larva instar III *Aedes aegypti*
- b. Larva instar III *Aedes aegypti* masing-masing 20 ekor untuk setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam wadah tadi lalu ditambahkan ekstrak daun sirih pada konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1%. dan blanko.

- c. Lakukan pengamatan pada larva untuk setiap perlakuan konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 1%.dan blanko. Lakukan perhitungan kematian larva selama 48 jam.

Standar Operasi Prosedur (SOP) ini menjelaskan proses yang harus diikuti untuk mengevaluasi kerentanan vektor bahwa durasi pengamatan adalah 24 jam setelah paparan larva terhadap larvasida. Namun, untuk larvasida bekerja lambat, pengamatan dapat diperpanjang hingga 48 jam. (WHO, 2016)

Uji Bioassay



Gambar 7 Uji Perlakuan

G. Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan mengumpulkan, data dari pengamatan diolah dan disajikan dalam bentuk table dan grafik di analisa dengan menggunakan analisa persentase dan SPSS, untuk mengetahui perbandingan dari efektivitas larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* yang telah diberikan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi yang berbeda