

BAB III **METODE PENELITIAN**

A. Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian yang dijalankan mempunyai sifat eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan Kontrol (+) abate 1%, dan Kontrol (-) aquadest 100%. Variabel bebas adalah ekstrak etanol biji pare (*Momordica charantia*) serta variabel terikat adalah mortalitas larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*

B. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Pembuatan ekstrak dan Determinasi akan dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan pada juni 2025.

C. Subjek penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah biji pare (*Momordica charantia*) yang sudah siap digunakan dengan ciri-ciri kulit luar berwarna hijau tua (Situmorang & Hasibuan, 2023), kemudian dibuat ekstrak Kontrol (+) abate 1%, dan Kontrol (-) aquadest 100%. Larva instar III *Aedes aegypti* yang digunakan adalah larva diproleh dari penampungan air warga diwilayah kerja Puskemas Hanura. Besar sampel dalam penelitian ini adalah 25 ekor disetiap konsentrasi dengan 5 kali repetisi berdasarkan rumus Federer, yaitu :

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

Keterangan :

t : Perlakuan

n : Pengulangan

$$(t-1)(n-1) \geq 15 \qquad \qquad n \geq 4,5$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15 \qquad \qquad n \geq 5$$

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

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

D. Variabel dan Devinisi Operasional

Tabel 3. 1 Variabel dan Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	a. Variabel bebas : ekstrak biji pare (<i>Momordica charantia</i>) yang sudah tua lalu diekstrak menggunakan pelarut etanol dan diencerkan dengan serian konsentrasi nya Kontrol (-), Aquadest, kontrol (+) Abate (Themepos)	biji pare (<i>Momordica charantia</i>) yang sudah tua lalu diekstrak menggunakan pelarut etanol dan diencerkan dengan serian konsentrasi nya Kontrol (-), Aquadest, kontrol (+) Abate (Themepos)	Pengenceran	Labu ukur, batang pengaduk	Persen %.Kontrol (-) aquadest kontrol + Abate (Themepos)	Rasio
2.	Variabel terikat : Mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Jumlah larva yang mati atau tidak bergerak lagi dan mengapung ke permukaan air bila disentuh dengan menggunakan spatula	Observasi	Visual	Jumlah (ekor)	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Prosedur penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian dari Potekkes Kemenkes Tanjung Karang. Pembuatan surat izin determinan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dan surat izin ekstrak di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dari Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang.
- b. Pembuatan simplisia dengan menyiapkan biji pare (*Momordica charantia*), lalu biji pare dioven di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung. Hasil pengeringan tersebut adalah simplisia
- c. Dilakukan Determinasi pada biji pare(*Momordica charantia*) di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung.

- d. Pembuatan ekstrak etanol biji pare dan determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung dengan proses ekstraksi simplisia biji pare dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol.
 - e. Setelah larva nyamuk *Aedes aegypti* diperoleh, sampel larva dilihat dengan mikroskop untuk memastikan bahwa memang benar larva *Aedes aegypti* maka dilakukan qulity control dengan cara melihat 5 larva dari 100 larva. Larva instar III harus berukuran 5 mm, memiliki corong pernafasan berwarna coklat tua, sifon yang besar, gigi sisir disegmen kedelapan dan pergantian kulit.
 - f. Pembuatan Konsentrasi uji ekstrak etanol biji pare. dengan menggunakan rumus pengenceran $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$.
 - g. Pengujian toksitas ekstrak etanol biji pare dengan cara memasukkan larva ke dalam gelas cup yang diisi dengan berbagai konsentrasi. Data yang diperoleh dengan cara mengkalkulasikan total larva nyamuk yang mengalami kematian pada wadahnya. Perhitungan larva yang mati dilakukan setiap 1 jam sekali selama 12 jam pada masing-masing konsentrasi. Kontrol negatif adalah air suling 100 ml dan Kontrol positif yakni abate 0,01%.
2. Cara kerja
 - a. Persiapan alat dan Bahan
 1. Alat yang dipakai pada penelitian ini yakni labu volume, gelas beaker, kertas saring, gelas objek, evaporator, mikroskop, gelas cup, gelas ukur 1000ml, sendok plastik, blender, pipet volume, stopwatch, nampan plastik, batang pengaduk, corong, timbangan analitik, botol gelap, dan kertas label.
 2. Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah etanol, bubuk abate, biji pare, dan larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*.

b. Melihat morfologi larva *Aedes aegypti*

Melihat larva *Aedes aegypti* secara mikroskopis untuk mengetahui morfologi dari larva *Aedes aegypti*.

c. Pembuatan simplisia

Simplisia yang digunakan adalah bagian biji pare yang masih segar, biji pare yang sudah diambil kemudian dicuci sampai bersih pada air mengalir lalu dilakukan pemotongan untuk diambil bijinya. setelah itu dikeringkan dengan cara dioven di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung, biji pare yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penggiling atau blender sehingga didapatkan simplisia sebanyak 500gr. Setelah itu biji pare disimpan pada wadah yang kering dan siap di ekstrak.

d. Pembuatan Ekstrak ethanol biji pare

1. Simplisia biji pare (*Momordica charantia*) ditimbang sebanyak 500gr kemudian dipindahkan ke dalam gelas beaker.
2. Lalu direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5L sampai serbuk terendam dengan sempurna.
3. Simplisia direndam selama 3x24 jam dan sesekali diaduk.
4. Setelah 3 hari maserasi, disaring hingga didapatkan maserat atau ekstrak.
5. Dilakukan remaserasi untuk menarik zat yang masih tersisa disisih maserasi
6. Ekstrak yang sudah didapatkan lalu dipekatkan dengan rotary evaporator kecepatan 60 rpm, dan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.
7. Ekstrak kemudian disimpan dalam wadah berbahan gelas yang steril, bersih, dan kering lalu diletakkan didalam kulkas dengan suhu 2- 8°C.

e. Pembuatan konsentrasi uji

1. Ekstrak biji pare yang sudah dikentalkan dengan evaporator lalu akan diencerkan dengan etanol 96% pada konsentrasi yang sudah ditetapkan
 2. Pipet ekstrak sesuai dengan perhitungan konsentrasi yang akan dibuat, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 100ml.
 3. Setelah itu diencerkan dengan cara ditambahkan aquadest sampai dengan batas garis atas atau sampai volume 100ml.
 4. Lalu ekstrak dengan yang sudah diencerkan dimasukkan kedalam masing-masing gelas berbeda sesuai dengan konsentrasi yang akan dibuat (Fitriya, 2018).
- Ekstrak diencerkan dengan Menggunakan aquadest yang steril dengan rumus pengenceran

$$V1 \times M1 = V2$$

Keterangan :

V1 = Volume larutan yang akan dipipet

M1 = Konsentrasi larutan uji

V2 = Volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest
steril M2 = Konsentrasi yang akan dibuat

f. Pengadaan larva *Aedes aegypti*

Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang didapat dari penampungan air warga diwilayah kerja puskesmas Hanura. Setelah 2 hari Larva yang rata rata adalah instar II akan menjadi larva instar III terlihat dari ciri khas duri pada thorax yang sudah menjadi hitam setelah didiamkan menjadi Larva instar III. Untuk memastikan bahwa larva uji adalah larva *Aedes aegypti* maka dilakukan quality control yang mana pada uji ini diperiksa secara mikroskopis 5 larva dari 100 larva.

1. Larva diletakkan di objek glass kemudian ditutup deck glass dan diperiksa dibawah mikroskop perbesaran 4 x 100.

2. Ciri-ciri larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* : duri thorax yang mulai tertampak jelas dengan duri-duri dada mulai jelas dengan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman. Pada instar III ini memiliki sifon yang gemuk dan larva instar III juga adalah larva yang paling aktif bergerak, setelah itu larva ini siap digunakan.
- g. Uji efektivitas konsentrasi dan uji waktu optimum
 1. Disiapkan 7 gelas plastik yang masing-masing telah diisi 100 ml ekstrak etanol biji pare dan konsentrasi yang sudah ditetapkan.
 2. Membuat kontrol negatif dengan mengisi satu gelas plastik memakai 100 ml aquadest.
 3. Membuat kontrol positif dengan memuat satu gelas plastik menggunakan 1 gram bubuk abate dalam 100 ml aquadest
 4. Masukkan larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 25 ekor menggunakan spatula ke dalam masing-masing gelas plastik yang sudah berisi ekstrak biji pare yang sudah diencerkan.
 5. Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali pada setiap perlakuan dengan waktu pengamatan mortalitas setiap 1 jam selama 12 jam.
- h. Melihat pengaruh ekstrak biji pare terhadap morfologi *Aedes aegypti* secara mikroskopis.

F. Pengolahan data dan Analisis Data

Data mortalitas larva nyamuk yang diperoleh kemudian dihitung untuk mencari rerata persentase kematian larva nyamuk pada masing-masing perlakuan konsentrasi dan pada waktu kontak dengan menggunakan rumus

$$\text{Kematian \%} = \frac{X}{N} \times 100\% \text{ (Yuniarty, 2016)}$$

X = Mortalitas dari larva *Aedes aegypti*.

N = Jumlah total larva yang diujikan.

kemudian data dianalisis menggunakan Analysis of Variances (ANOVA) untuk mengetahui perbandingan mortalitas larva *Aedes aegypti* pada setiap serian konsentrasi. Apabila pada uji One Way Anova terdapat perbedaan yang bermakna dapat dilanjutkan dengan

uji Post hoc. Untuk menentukan efektivitas dalam pengunaan ekstrak etanol biji pare terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan uji Probit.