

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu *eksperimental*. Desain penelitian yang digunakan *cross sectional*. Variabel bebas penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dengan 4 kali pengulangan dan menggunakan kontrol positif Abate dan kontrol negatif aquades dan variabel terikat adalah tingkat mortalitas larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*.

B. Lokasi dan Waktu penelitian

1. Lokasi

Larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* didapat dari Laboratorium Entomologi SKHB IPB Bogor. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Lampung dan uji ekektifitas dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juni 2025

C. Subyek Penelitian

Subjek penelitian adalah ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) yang hijau dan masih segar atau muda yang didapatkan dari Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka IPB Bogor. Dengan sampel yang digunakan adalah larva instar III *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi SKHB IPB Bogor. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan, jumlah pengulangan berdasarkan rumus Federer yaitu :

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

Keterangan:

t : Perlakuan

n : Pengulangan

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

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 6$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21$$

$$n \geq 21/6$$

$$n \geq 3,5$$

Jadi, setiap sampel terdiri atas 4 pengulangan.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Variabel bebas: Ekstrak daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>)	Daun kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>) yang sudah dibersihkan dan di ekstraksi menggunakan etanol dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4% dan 5%	Dengan Metode ekstraksi	Botol reagen, corong gelas, corong pisah, erlemeyer, dan kertas saring	Persen (1%, 2%, 3%, 4% dan 5%) Kontrol (-) aquadest 100% Kontrol (+) abate	Rasio
2.	Variabel Terikat : Waktu kontak dengan Ekstrak daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>)	Rentang waktu kontak antara Ekstrak daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>) dengan larva <i>Aedes aegypti</i> hingga menimbulkan mortalitas	Observasi	Makroskopis dan stopwatch	2 jam 4 jam 6 jam 8 jam 10 jam 12 jam	Rasio
3.	Variabel terikat : Kematian larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	Jumlah larva instar III nyamuk <i>Aedes aegypti</i> yang mati setelah terpapar larutan ekstrak dalam interval waktu.	Observasi	Makroskopis dan stopwatch	Jumlah larva (ekor)	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

Data yang telah diperoleh dari penelitian ini adalah data primer yang didapat dari hasil eksperimental yaitu hasil dari konsentrasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dalam membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue.

Pengumpulan data dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Melakukan penelusuran Pustaka untuk mendapatkan pandangan ilmiah tentang penelitian .
2. Melakukan pre-survey pada lokasi penelitian, yaitu di Laboratorium Entomologi SKHB IPB Bogor.
3. Melakukan pengajuan surat izin permintaan sampel yang diajukan ke Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
4. Setelah didapatkan surat dari Jurusan, peneliti dapat izin untuk melakukan pemesanan telur *Aedes aegypti* di Laboratorium Entomologi SKHB IPB Bogor, untuk dilakukan pengiriman, setelah sampai kemudian Telur *Aedes aegypti* dibawa ke Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang untuk dilakukan pembiakan sampai menjadi larva instar III.
5. Selanjutnya peneliti dapat mengolah ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) yang mana nantinya akan digunakan dalam membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue.
6. Alat dan bahan
 - a. Alat
 - 1) Alat yang digunakan untuk ekstraksi daun kemangi (*Ocimum sanctum*) yaitu, blender, kertas saring, neraca, pipet tetes, gelas ukur, evaporator.
 - 2) Alat-alat yang digunakan untuk persiapan larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue, yaitu kotak nyamuk dengan ukuran 25x25x25 cm².

b. Bahan

- 1) Bahan untuk ekstraksi daun kemangi (*Ocimum sanctum*)
 - a. Daun kemangi(*Ocimum sanctum*)
 - b. Etanol 96%.
- 2) Bahan untuk uji efektivitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*)
 - a. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*)
 - b. Aquadest
 - c. Larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*
 - d. Abate

7. Prosedur Pemeriksaan

a. Pembuatan Ekstrak

- 1) Daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dipilih yang hijau dan masih segar atau muda yang di ambil sebanyak 1000 gram.
- 2) Daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dicuci dengan menggunakan air.
- 3) Kemudian dikeringkan tanpa penyinaran langsung cahaya matahari dan ditutup dengan kain hitam.
- 4) Setelah kering, daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dihaluskan dengan menggunakan blender.
- 5) Sampel daun kemangi diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam untuk melarutkan zat-zat aktif dalam daun kemangi sampai seluruh daun terendam.
- 6) Didapatkan filtrat dan ampasnya kemudian filtratnya dikumpulkan.
- 7) Lakukan penguapan dengan evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental (Nikoyan dkk. 2023).
- 8) Setelah selesai, simpan ekstrak dalam wadah kaca yang steril, bersih, dan kering. Terakhir dapat diencerkan dengan variasi konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% sesuai dengan rumus pengenceran yang telah ditetapkan.

$$V1 \times \% 1 = V2 \times \% 2$$

Keterangan :

V1 = Volume larutan yang akan dipipet (ml)

% 1 = Konsentrasi larutan uji (100%)

V2 = Volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest steril (ml)

% 2 = Konsentrasi yang akan dibuat (%)

b. Penyediaan Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Telur nyamuk *Aedes aegypti* didapat dari Laboratorium Entomologi SKHB IPB Bogor. Selanjutnya, telur tersebut diinkubasi dalam nampan plastik yang sudah diisi dengan aquades agar suhu dan pH air yang digunakan lebih optimal, untuk menghindari kegagalan proses penetasan telur dan perkembangan larva. Proses penetasan berlangsung hingga larva muncul, yang kemudian diberi pakan berupa hati ayam yang sudah direbus dan dihaluskan. Dalam waktu dua hari, telur berkembang menjadi larva tahap pertama, diikuti oleh larva tahap kedua, dan kemudian larva tahap ketiga. Sebelum digunakan, salah satu larva akan diperiksa secara mikroskopis dengan cara:

Larva diletakkan pada objek glass, kemudian tutup dengan deck glass, dan diperiksa di bawah mikroskop pada pembesaran 4 x 10.

Ciri-ciri berikut menggambarkan larva nyamuk *Aedes aegypti* pada stadium III: Pada tahap ini, larva berukuran kira-kira 4-5 mm, dan duri di bagian dadanya mulai terlihat. Larva memiliki saluran pernapasan hitam kecoklatan. Sifon dan gigi sisir yang lebih besar pada segmen perut kedelapan menunjukkan pergantian kulit, adalah karakteristik stadium III. Larva ini siap digunakan pada tahap ini, dan mereka dapat bertahan hidup selama tiga hingga empat hari

c. Uji Efektifitas

1. Siapkan tujuh gelas plastik, lalu isi masing-masing dengan ekstrak etanol 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% dari daun kemangi yang segar atau muda.
2. Gunakan 100 ml aquadest untuk membuat kontrol negatif.
3. Buat kontrol positif dengan mencampurkan 100 mililiter aquadest dengan 0,01 gram bubuk abate.
4. Isi setiap gelas plastik dengan larutan ekstrak daun kemangi yang sudah disiapkan, lalu ambil 24 larva *Aedes aegypti* stadium III dan masukkan ke dalamnya.
5. Dilakukan observasi setiap 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 jam, kemudian dilakukan pencatatan terhadap kematian larva pada masing – masing perlakuan, ulangi semua percobaan ini sebanyak empat kali.
6. Uji Efektifitas dilakukan pada tempat, waktu, air aquades yang digunakan sama, untuk memastikan suhu yang sama terhadap setiap perlakuan konsentrasi.

Pengumpulan data dilakukan dengan cara observasi/pengamatan menghitung jumlah kematian larva instar III *Aedes aegypti* tiap, 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 jam pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun kemangi. Rancangan percobaan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan konsentrasi yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%. Aquades sebagai kontrol negatif dan abate sebagai kontrol positif pertumbuhan nyamuk.

F. Pengolahan Data dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Data yang digunakan dalam penelitian adalah data primer, kemudian data diolah dengan menggunakan program komputerisasi dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- a. *Editing Data* merupakan tahapan dimana penulis memeriksa data yang dimasukkan untuk melihat apakah ada kesalahan atau tidak.
- b. *Coding* adalah tahapan pengubahan data yang berupa kalimat atau huruf menjadi data yang berupa angka atau bilangan.

- c. *Entry Data* adalah data yang selesai di kodekan dan diproses menggunakan komputer.
- d. *Procesing Data* merupakan proses mengintegrasikan data dari check list ke program komputer agar dapat dianalisis.
- e. *Cleaning Data* adalah tahapan pengecekan kembali data yang telah dimasukkan apakah ada kesalahan saat memasukkan data kekomputer.

2. Analisis Data

a. Analisis Univariat

Analisa ini digunakan untuk melihat distribusi frekuensi pada setiap variabel penelitian.

b. Analisis Bivariat

Data yang terkumpul selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis statistika dengan menggunakan analisa bivariat. Analisa bivariat dilakukan menggunakan Uji *One Way Annova* uji ini digunakan untuk melihat ada tidaknya perbedaan jumlah kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Uji ANOVA dapat digunakan apabila persebaran data (distribusi data) normal dan varians data sama. Jika syarat terpenuhi dilanjutkan dengan uji *Post hoc* dengan menggunakan aplikasi *Statistical Program For Social Science* (SPSS).

G. *Ethical Clearance* (Persetujuan Etik)

Penelitian ini sudah mendapatkan layak etik dari Komite Etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang No. 132/KEPK-TJK/IV/2025 tanggal 16 April 2025. Dalam proses penelitian, terdapat potensi limbah laboratorium berupa sisa larutan ekstrak atau larva yang mati. Limbah ini akan dikelola sesuai dengan prosedur pengelolaan limbah laboratorium untuk mencegah pencemaran lingkungan. Penelitian ini tidak melibatkan identitas manusia atau data pribadi yang memerlukan kerahasiaan, namun prosedur penelitian akan tetap mengikuti prinsip-prinsip etika laboratorium. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung sepenuhnya oleh peneliti.