

BAB 4

METODE PENELITIAN

1.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris (*true eksperimental-post test only control group design*). yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) sebagai insektisida terhadap nyamuk *Aedes sp* dewasa.

1.2 Populasi dan Sampel

1.2.1 Populasi

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk *Aedes sp*.

4.2.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian adalah nyamuk *Aedes sp* dewasa yang telah di pilih dengan kriteria

1. Inklusi : masih aktif bergerak dan hidup
2. Eksklusi : tidak aktif bergerak dan mati

4.2.3 Estimasi Besar Sampel

Sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya dilakukan uji eksplorasi (penelitian pendahuluan) dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Dengan menggunakan nyamuk sebanyak 25 ekor pada setiap kandang menggunakan kriteria nyamuk *Aedes sp* yang hidup. Setelah uji pengulangan selesai maka dilakukan uji penelitian sesungguhnya dengan menggunakan 25 ekor tiap kandangnya dan dengan 4 kali pengulangan. Rentang konsentrasi yang akan digunakan pada percobaan ini menggunakan 3 perlakuan, 1 kontrol

positif dan 1 kontrol negatif. Pengulangan akan dilakukan 4 kali berdasarkan jumlah nyamuk *Aedes sp* yang tersedia. Dengan menggunakan 25 ekor nyamuk pada setiap pengulangan tersebut

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah nyamuk dewasa *Aedes sp* yang mati oleh pemberian ekstrak daun sirih pada konsentrasi tertentu dalam waktu yang ditentukan

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dengan menggunakan range yang ditentukan melalui uji eksplorasi. Didapatkan konsentrasi 30 %, 40 %, 50 % sebagai konsentrasi ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional terdiri dari ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan nyamuk *Aedes sp*.

- A. Bahan untuk pembuatan ekstrak daun sirih adalah tanaman sirih yang didapatkan dari Dinas Kesehatan UPT Materia Medica, kemudian dilakukan proses ekstraksi pada laboratorium farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- B. Dalam penelitian digunakan nyamuk *Aedes sp* dewasa yang didapat dari larva nyamuk *Aedes sp* yang berasal dari *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga dan dikembangkan di laboratorium parasitology Fakultas Kedokteran universitas Brawijaya hingga menjadi nyamuk dewasa

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan di gunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 3 kelompok:

- a. Alat dan persiapan konsentrasi ekstrak yang terdiri dari ekstrak daun sirih, wadah plastik, gelas ukur, spuit 6 cc/mL, dan kapas
- b. Alat-alat untuk uji efek insektisida ekstrak daun sirih terhadap nyamuk *Aedes sp* dewasa antara lain obat nyamuk elektrik, kertas matt obat nyamuk elektrik, timer, gelas ukur, dan spuit 6 cc/mL.
- c. Alat alat untuk persiapan nyamuk dewasa *Aedes sp*. Antara lain sangkar kain (100 cm x 100 cm x 60 cm) dan jaring serangga.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*)

Daun sirih yang didapatkan dari Dinas Kesehatan UPT Materia Medica dicuci bersih, dikeringkan, dipotong kecil kecil, lalu dimasukkan kedalam drying selama 24 jam, kemudian dihaluskan sedikit demi sedikit. Hasilnya kemudian direndam dalam pelarut ethanol selama 24 jam. Kemudian pelarutnya diambil. Ekstrak yang diperoleh lalu pelarutnya diupakan dengan *Rotary Evaporator* dan diperoleh ekstrak daun sirih (*Piper betle*).

4.6.3 Persiapan Kertas Matt Obat Nyamuk Steril

Kertas matt obat nyamuk yang mengandung d-aletin 0,01 lg/l dipasang dan dipanaskan dengan obat nyamuk elektrik, hingga warna pada kertas matt menjadi putih. Proses ini membutuhkan waktu sekitar 24 jam, kemudian kertas matt direndam dengan alkohol 70% selama 2 x 24 jam, setelah sterilisasi dengan alkohol 70% selesai, dilakukan perendaman dengan air bersih. Kemudian keringkan dengan cara dijemur selama 24 jam, pastikan tidak ada air yang tersisa pada kertas matt tersebut. Kemudian kertas matt direndam pada larutan ekstrak sesuai konsentrasi yang telah di tentukan dan ditunggu sampai ekstrak meresap kedalam kertas matt kurang lebih 3 menit. Kertas matt yang sudah mengandung ekstrak siap digunakan.

4.6.4 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diguakan dalam penelitian ini juga dibagi menjadi 3 kelompok :

- Bahan untuk pembuatan ekstrak adalah daun sirih yang didapatkan dari Dinas kesehatan UPT Materia medica .
- Bahan persiapan nyamuk adalah botol aqua sedang yang berisi larva *Aedes sp* yang didapat dari *Tropical Disease Diagnostic Center Universitas Airlangga* .
- Bahan untuk uji efek ekstrak daun sirih terhadap nyamuk *Aedes sp* dewasa antara lain, ekstrak daun sirih, nyamuk *Aedes sp* dewasa, obat nyamuk elektrik, kertas matt steril, air bersih, dan kertas matt obat nyamuk elektrik yang masih berisi d –aletrin 0,01 lg/l.

4.7 Cara Kerja dan Pengumpulan Data

4.7.1 Penyiapan Larutan

Cairan pelarut yang digunakan sebagai pelarut adalah etanol. Larutan etanol digunakan untuk mempermudah proses pelepasan zat zat aktif dari daun sirih.

4.7.2 Penyiapan Larutan Uji

Penelitian ini terdapat 2 kelompok, yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, untuk kelompok kontrol dibagi 2 kontrol positif dan kontrol negatif. Untuk mendapatkan campuran yang diinginkan dapat digunakan rumus pengenceran :

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1 : konsentrasi larutan stok ekstrak daun sirih

M2 : konsentrasi larutan ekstrak daun sirih yang diinginkan

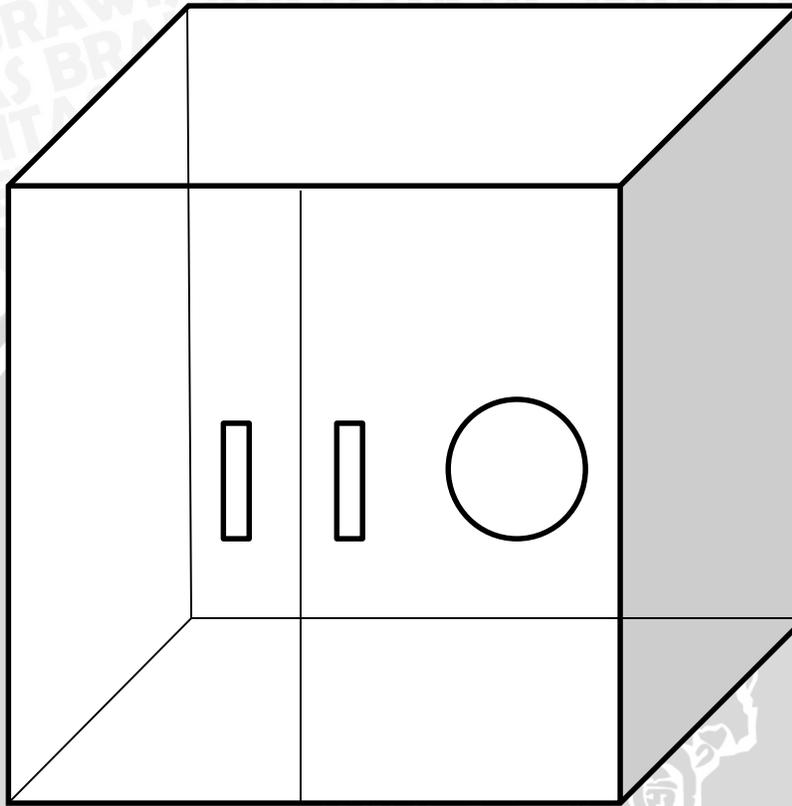
V1 : volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : volume larutan perlakuan yang diperlukan

Volume akhir larutan perlakuan yang diperlukan untuk setiap konsentrasi adalah 30 ml. Jadi, setelah diambil dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan air sampai mencapai volume 30 ml

4.7.3 Persiapan Nyamuk *Aedes sp*

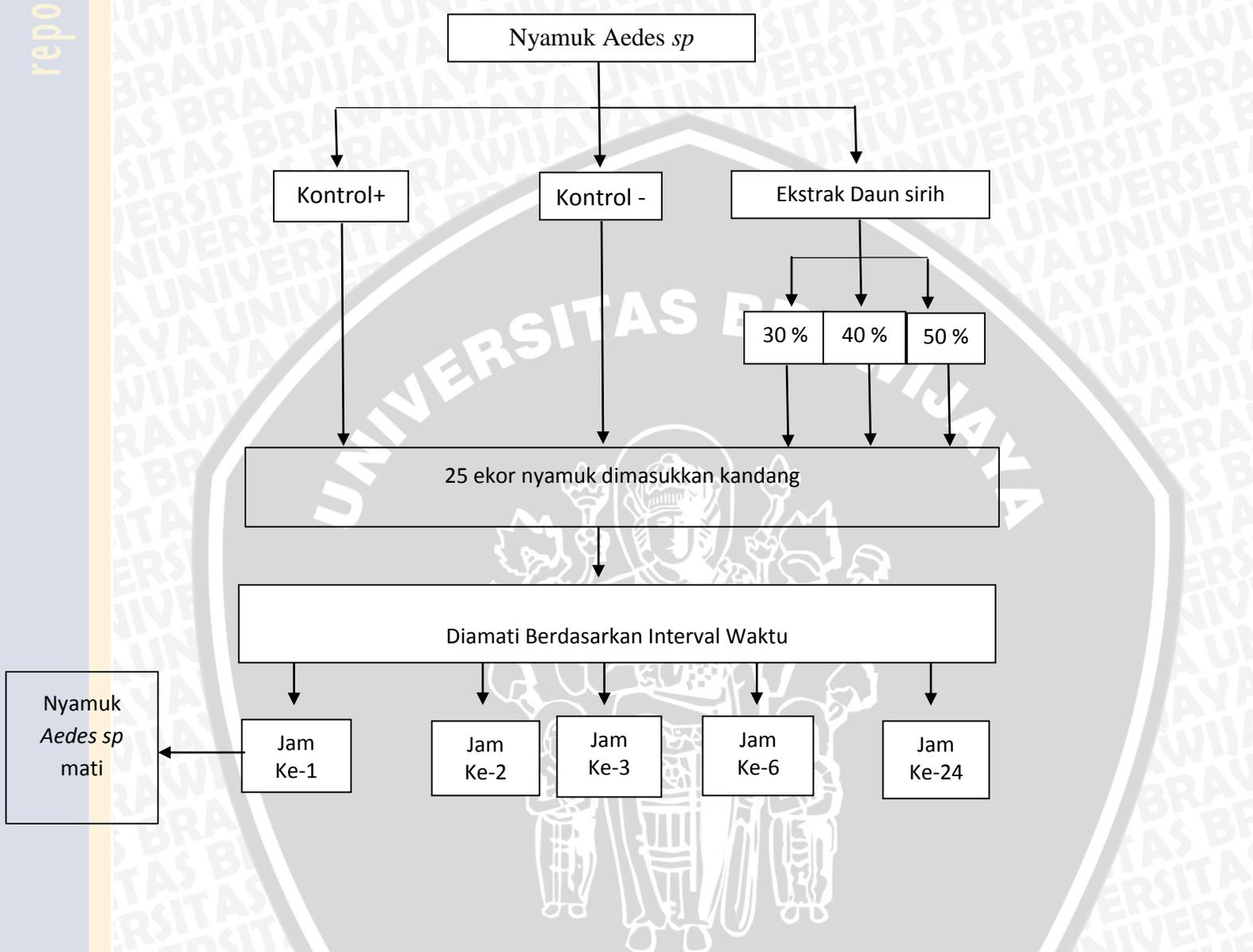
Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kotak jaring berbentuk bujur sangkar berukuran 100 x 100 x 60 cm yang diletakkan di ruang penelitian laboratorium parasitologi Universitas Brawijaya. Pertama siapkan larutan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 30 %, 40 %, 50 %, rendam kertas matt obat nyamuk elektrik yang sudah steril ke setiap larutan, lalu siapkan kertas matt kontrol positif dan kertas matt kontrol negatif dan kertas matt ekstrak daun sirih. Masing-masing dimasukkan ke dalam obat nyamuk elektrik dengan aliran listrik 220 V . Kandang satu menggunakan kertas matt berisi kontrol positif. Kandang dua menggunakan kontrol negatif. Kandang tiga menggunakan ekstrak daun sirih 30 %. Kandang empat menggunakan ekstrak daun sirih konsentrasi 40 %. Kandang lima menggunakan ekstrak daun sirih 50%. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah penguapan pada jam ke 1, jam ke 2, jam ke 3, jam ke 6, jam ke 24 jam



Gambar 4.1 Kandang tempat penelitian nyamuk aedes sp

Keterangan :

Kotak berukuran 100 cm x 100 cm x 60 cm yang berada di ruang laboratorium parasitologi, kotak terbuat dari kayu dengan ke 6 sisi ditutupi oleh jaring, bagian tengah terdapat pintu yang bisa di buka ke sisi kanan dan kiri. Bagian kiri tengah terdapat lubang yang berfungsi untuk memberi makan pada nyamuk. berikut ini adalah skema penelitian ekstrak daun sirih dengan berbagai konsentrasi sebagai insektisida terhadap nyamuk *Aedes sp*



4.7.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada jam 1, jam 2, jam 3, jam 6, dan jam 24. keadaan semua kelompok perlakuan diamati untuk mencari perubahan jumlah nyamuk yang hidup. Jumlah nyamuk yang mati dihitung dan dalam tabel.

4.7.6 Pengumpulan Data

Data hasil yang diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah nyamuk yang mati. dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah jumlah nyamuk yang mati untuk setiap perlakuan setelah pengamatan jam. Data kematian nyamuk akan diolah menjadi data potensi insektisida yang disajikan dalam bentuk tabel.

4.7.6 Analisis Data

Data potensi insektisida akan diuji secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0. Untuk menentukan jenis analisis yang akan digunakan dalam menguji data statistik, maka data data ini harus melalui beberapa uji terlebih dahulu untuk bisa menentukan metode statistik yang sesuai. Sebelum dilakukan analisis dengan menggunakan uji *Analysis of variance* (Anova), data yang diperoleh dari setiap perlakuan dianalisis kehomogennannya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (levene test) untuk mengetahui apakah data yang digunakan memiliki ragam yang sama (Dahlan,2009)

Dari hasil uji *homogeneity of variance* tadi maka diketahui penggunaan uji statistik yang sesuai untuk pengolahan data adalah uji non parametrik menggunakan uji Kruskal wallis