

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

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

#### 4.2 Populasi dan Sampel

##### 4.2.1 Populasi

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk *Aedes aegypti*

##### 4.2.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian adalah nyamuk *Aedes aegypti* 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

Nyamuk dimasukkan kedalam kandang sebanyak 25 ekor pada setiap kandang dengan menggunakan kriteria nyamuk *Aedes aegypti* yang hidup dan bisa terbang (Kartika, 2014). Sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya dilakukan uji eksplorasi (penelitian pendahuluan), dengan menggunakan rentang konsentrasi yang akan digunakan pada percobaan ini menggunakan 4 perlakuan, 1 kontrol positif

dan 1 kontrol negatif. Pengulangan akan dilakukan 4 kali berdasarkan rumus replikasi sebagai berikut (Tjokronegoro, 2004):

$$P(n-1) \geq 16$$

$$6(n-1) \geq 16$$

$$n-1 \geq 16/6$$

$$n \geq 3,66 \approx 4$$

Keterangan:

n: Pengulangan

p: Perlakuan

#### 4.3 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak daun sirih dengan beberapa variasi konsentrasi dan waktu paparan. Didapatkan konsentrasi 20%, 25%, 30% dan 35% sebagai konsentrasi ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian.

##### 4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah difogging dengan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi yang berbeda dalam waktu yang ditentukan.

#### 4.5 Definisi Operasional

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

*Aedes aegypti*:

1. Bahan untuk pembuatan ekstrak daun sirih adalah tanaman sirih yang didapatkan dari Materia Medica Batu Malang, kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Dalam penelitian digunakan nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berasal dari larva stadium 3 *Aedes aegypti* Dinas Kesehatan Surabaya dan dikembangbiakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 4.6 Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

##### 4.6.1 Peralatan Penelitian

1. Mesin *fogging*
2. Kandang nyamuk Kubus (1m x 1m x 1m)
3. Gelas ukur
4. Korek api
5. Tabung gas kecil
6. Kandang nyamuk Silinder (tinggi 30 cm dan diameter 10 cm)

##### 4.6.2 Bahan Penelitian

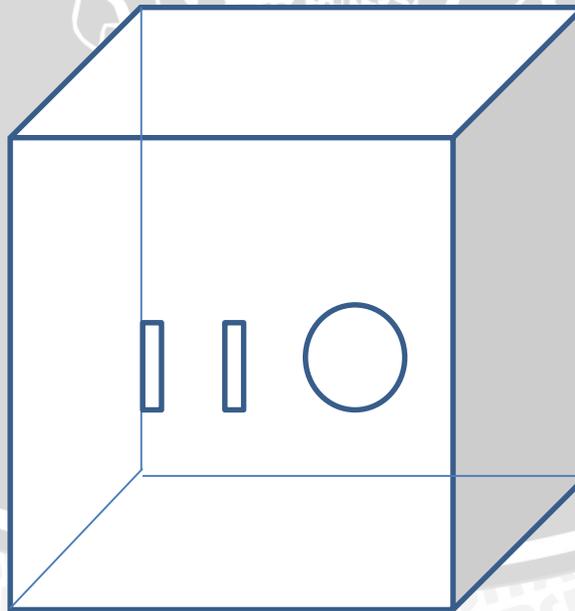
1. Ekstrak daun sirih
2. *Malathion* 0,04 %
3. Solar

#### 4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih

Daun sirih yang telah siap 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 diuapkan dengan *Rotary Evaporator* dan diperoleh ekstrak daun sirih (*Piper betle*) (Mokoginta *et al*, 2013).

#### 4.6.4 Persiapan Nyamuk *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* diberi makan berupa larutan gula agar bisa bertahan hidup. Percobaan dilakukan dengan menggunakan 1 buah kandang kubus berukuran 1m x 1m x 1m dan 4 buah kandang silinder di tiap perlakuan. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah *fogging* pada jam ke 1, jam ke 2, jam ke 3, jam ke 4, jam ke 6, jam ke 24 jam.

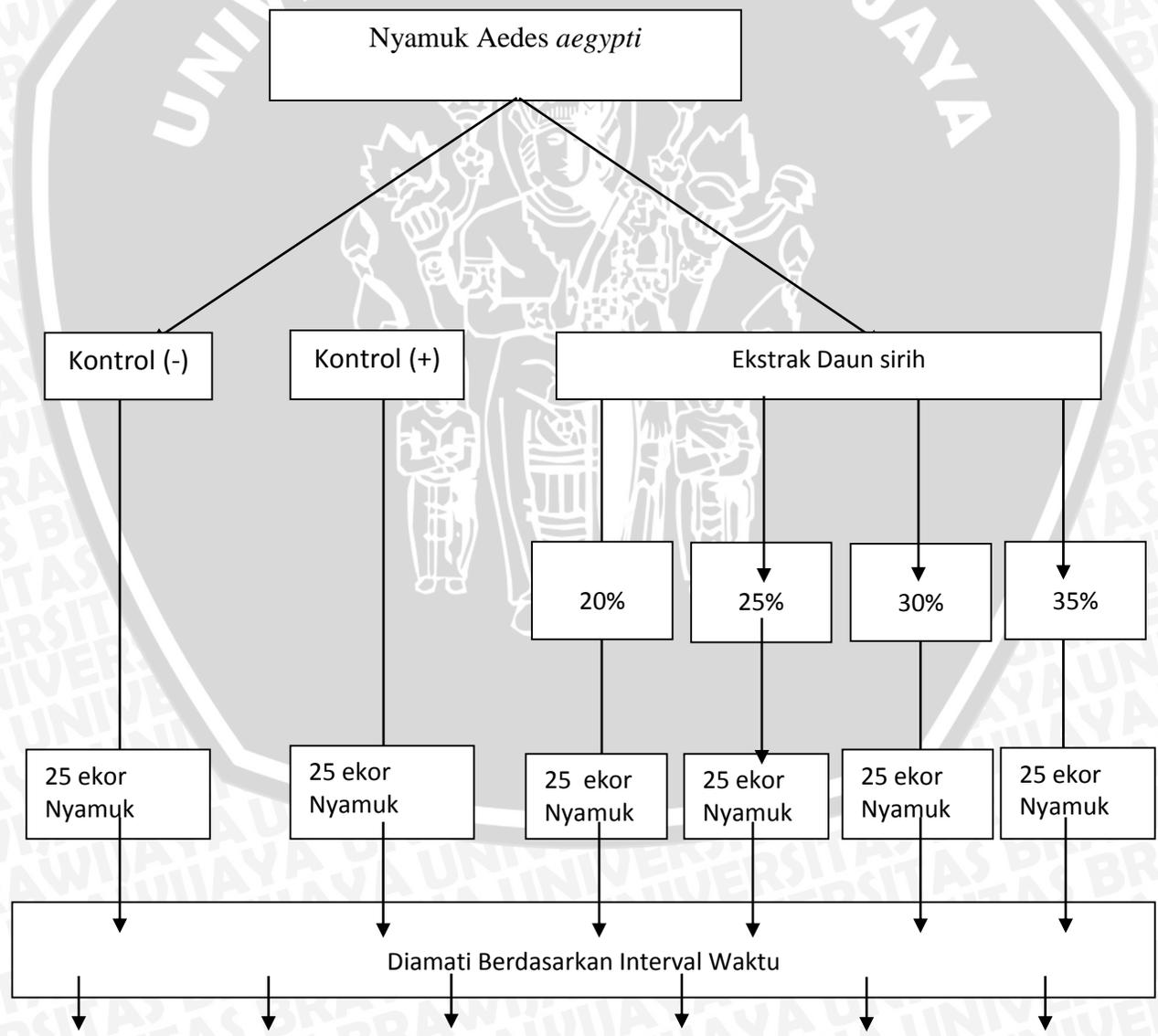


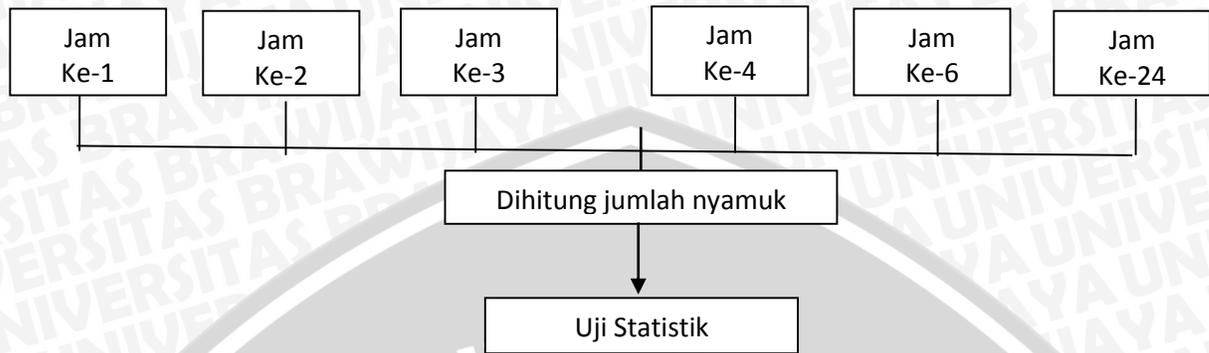
Gambar 4.1 Kandang tempat penelitian nyamuk *Aedes aegypti*

Keterangan :

Kotak berukuran 1m x 1m x 1m yang berada di luar 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. Pada bagian sisi ditutupi kertas sampul warna coklat agar asap *fogging* tidak keluar dari kandang. Bagian kiri tengah terdapat lubang yang berfungsi sebagai tempat masuknya asap pada kandang.

**4.6.5 Skema Penelitian**





#### 4.7 Cara Kerja dan Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Penyiapan Larutan

Cairan larutan yang digunakan sebagai pelarut adalah solar. Larutan stok ekstrak daun sirih dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji.

##### 4.7.2 Pembuatan Larutan Uji

Pada penelitian ini terdapat dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dibagi menjadi dua yakni kontrol negatif dan kontrol positif sedangkan pada kelompok perlakuan diberi sesuai konsentrasi 20%, 25%, 30% dan 35%.

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 solar sampai mencapai volume 30 ml.

#### 4.7.3 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada jam 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 6 jam dan 24 jam. Keadaan semua kelompok perlakuan diamati untuk mencari perubahan jumlah nyamuk yang hidup.jumlah nyamuk yang mati dihitung dan dalam tabel

#### 4.7.4 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.

#### 4.7.5 Analisis Data

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 dengan menggunakan *Abbott's Formula*, yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control (-) mortality} \times 100}{100}$$

Keterangan :

- % test mortality adalah jumlah persentase kematian nyamuk pada masing-masing perlakuan

% control (-) mortality jumlah persentase kematian pada kontrol negative

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 kehomogenannya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (*levene test*) untuk mengetahui apakah data yang digunakan memiliki ragam yang sama. Jika hasil distribusi data tidak normal atau tidak homogen, maka alternatifnya menggunakan uji *Kruskal Wallis* dengan *Post Hoc*-nya menggunakan *Mann Whitney* (Dahlan, 2009)

