BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui potensi jus daun sirih (*Piper betle L*.) sebagai bahan antinyamuk (*repellent*) pada kapas yang telah dioleskan atraktan nyamuk.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah nyamuk dewasa yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah:

- Nyamuk betina dewasa yang hidup
- Nyamuk yang aktif bergerak

Sampel yang diambil adalah sejumlah nyamuk dewasa betina yang telah memenuhi kriteria inklusi dan telah diseleksi. Pada kelompok perlakuan dibuat 5 sampel kapas yang pertama ditetesi larutan aquades dengan gula, yang kedua ditetesi larutan DEET dengan gula, yang ketiga ditetesi larutan jus daun sirih konsentrasi 40%, yang keempat ditetesi larutan jus daun sirih konsentrasi 45%, yang kelima ditetesi larutan jus daun sirih konsentrasi 50%.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Waktu pelaksanaannya dimulai pada bulan September 2016 dimulai pada jam 06.30-16.00.

4.4 Variabel Penelitian

- Variabel *independent*/bebas adalah pada beberapa konsentrasi jus daun sirih (*Piper betle L*.).
- Variabel *dependent*/tergantung adalah jumlah hinggapan nyamuk *Aedes aegypti* pada kapas yang telah diberi atraktan.

4.5 Definisi Operasional

a. Jus daun sirih (*Piper betle L*.) yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dari daun sirih yang tumbuh di Malang dan dibuat jus untuk diambil sari nya di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
b. *Repellent* adalah suatu bahan yang digunakan sebagai penolak hinggapan nyamuk.
c. Jumlah hinggapan nyamuk adalah banyaknya nyamuk yang hinggap pada kapas yang dimasukkan dalam kotak nyamuk dalam 5 menit dengan ketentuan seekor nyamuk dapat dihitung lebih dari satu kali hinggap.
d. kotak berbentuk bujur sangkar dengan ukuran 40x40x40 cm^3 yang ditutup kain/kelambu pada 6 sisinya.

e. Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa sejumlah 50 ekor per kandang.

f. Konsentrasi jus daun sirih yang digunakan adalah 40%, 45%, dan 50%.

g. Gula cair dengan konsentrasi 100%.

4.6 Bahan dan Instrumental Penelitian

4.6.1 Bahan Penelitian

4.6.1.1 Bahan Pembuatan Jus Daun Sirih

1. Daun Sirih

4.6.1.2 Bahan Uji Kemampuan *Repellent*

1. Nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa
2. Jus daun sirih dengan tiga konsentrasi berbeda
3. Aquades
4. DEET (kandungan 13%)
5. Kapas
6. Gula cair (kandungan glukosa 100%) sebagai atraktan nyamuk

4.6.2 Instrumen Penelitian

4.6.2.1 Instrumen Uji *Repellent*

1. Cawan
2. Kotak nyamuk
3. Alat pengukur waktu

4. Senter
5. Spuit
6. Gelas plastik

4.6.2.2 Alat Pembuatan Jus Daun Sirih

1. *Juicer*
2. Gelas Ukur
3. Alat penyaring
4. Kertas kasa
5. Timbangan analitik
6. Lemari pendingin
7. Lemari penyimpanan

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Penelitian

4.7.1.1 Pembuatan Jus Daun Sirih

1. Ambil beberapa lembar kemudian masukkan ke *juicer* untuk diambil sarinya. Nyalakan mesin *juicer* hingga keluar sarinya.
2. Setelah terdapat sarinya kemudian di saring dan ditunggu selama satu hari.
3. Setelah disimpan satu hari, diambil airnya.
4. Bagian cair digunakan sebagai larutan jus daun sirih.

4.7.1.2 Penyiapan Larutan Jus Daun Sirih

Larutan stok yang digunakan merupakan jus daun sirih dengan konsentrasi 100%. Selanjutnya, jus daun sirih ini akan dilarutkan dengan menggunakan pelarut aquades untuk mendapatkan konsentrasi 40%, 45%, dan 50%.

4.7.1.3 Penyiapan Larutan Uji

Persiapkan jus daun sirih yang telah diencerkan aquades yang kemudian ditambahkan gula cair 1mL sesuai dengan rumus

$$M_1 . V_1 = M_2 . V_2$$

Keterangan :

M1 : Konsentrasi larutan jus daun sirih, yaitu sebesar 100%

V1 : Volume larutan jus daun sirih yang harus dilarutkan

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

V2 : Volume larutan jus daun sirih yang diperlukan (5 mL)

Konsentrasi 40% = 2mL jus daun sirih + 2mL aquades + 1mL gula cair

Konsentrasi 45% = 2,25mL jus daun sirih + 1,75mL aquades + 1mL gula cair

Konsentrasi 50% = 2,5mL jus daun sirih + 1,5mL aquades + 1mL gula cair

4.7.1.4 Penyiapan Kapas dan Atraktan

- Menyiapkan gula cair dengan kandungan 100%.
- Mencampurkan jus daun sirih, aquades, dan gula cair sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan kedalam gelas plastik kemudian dilarutkan.
- Mencampurkan DEET 13% dengan gula cair kemudian dilarutkan.

- Mencampurkan aquades dengan gula cair kemudian dilarutkan.
- Kapas-Kapas telah dibagi menjadi lima kelompok sesuai dengan bahan yang akan diujikan kemudian diteteskan menggunakan spuit larutan yang sudah ditentukan.
- Kapas 1 mengandung konsentrasi campuran dari aquades 4mL + gula cair 1mL.
- Kapas 2 mengandung konsenstrasi campuran dari DEET 4mL + gula cair 1mL.
- Kapas 3 mengandung larutan jus daun sirih dengan konsentrasi 40% jus daun sirih + gula cair 1mL.
- Kapas 4 mengandung larutan jus daun sirih dengan konsentrasi 45% jus daun sirih + gula cair 1mL.
- Kapas 5 mengandung larutan jus daun sirih dengan konsentrasi 50% jus daun sirih + gula cair 1mL.

4.7.1.5 Penyiapan Sampel & Kandang Penelitian

Dalam penelitian ini dibutuhkan nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 500 ekor. Nyamuk *Aedes aegypti* tersebut dimasukkan kandang yang telah dirancang secara khusus untuk penelitian ini. Sebelum dilakukan penelitian, nyamuk harus dalam keadaan dibuat puasa selama 4 jam.

4.7.1.6 Uji Potensi Penelitian

- Penilitian dilakukan dalam keadaan suhu dan kelembaban ruangan normal.
- Persiapkan larutan jus daun sirih yang telah dibuat dan telah dikelompokkan sesuai dengan konsentrasiya.
- Kotak yang telah dipersiapkan dimasukkan 50 ekor nyamuk, dibuat puasa selama 4 jam di dalam suhu ruangan.
- Cawan 1 berisi kapas yang telah diberi gula cair 1mL sebagai atraktan + aquades (kontrol negatif). Cawan 2 berisi kapas yang telah diberi gula cair 1mL sebagai atraktan + DEET (kontrol positif). Cawan 3, 4, dan 5 berisi kapas yang telah diberi gula cair 1mL sebagai atraktan + jus daun sirih dengan masing-masing konsentrasi 40%, 45%, dan 50%.
- Hitung banyaknya nyamuk yang hinggap setiap lima menit pada jam 0, 1, 2, 4, 6. Apabila sedang tidak diamati, kapas dikeluarkan dari kotak.
- Jumlah pengulangan eksperimen yang dilakukan berdasarkan penghitungan rumus:

$$\mathbf{P(n-1) \geq 16}$$ (Tjokronegoro, 2004)

Keterangan :
p = jumlah perlakuan yang dilakukan
n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Berdasarkan rumus diatas perhitungan untuk pengulangan perlakuan adalah:

p (n-1) ≥ 16
5 (n-1) ≥ 16
5n-5 ≥ 16
n ≥ 4,2

Jadi berdasarkan rumus diatas, penelitian yang dilakukan pada penelitian ini minimal empat kali.

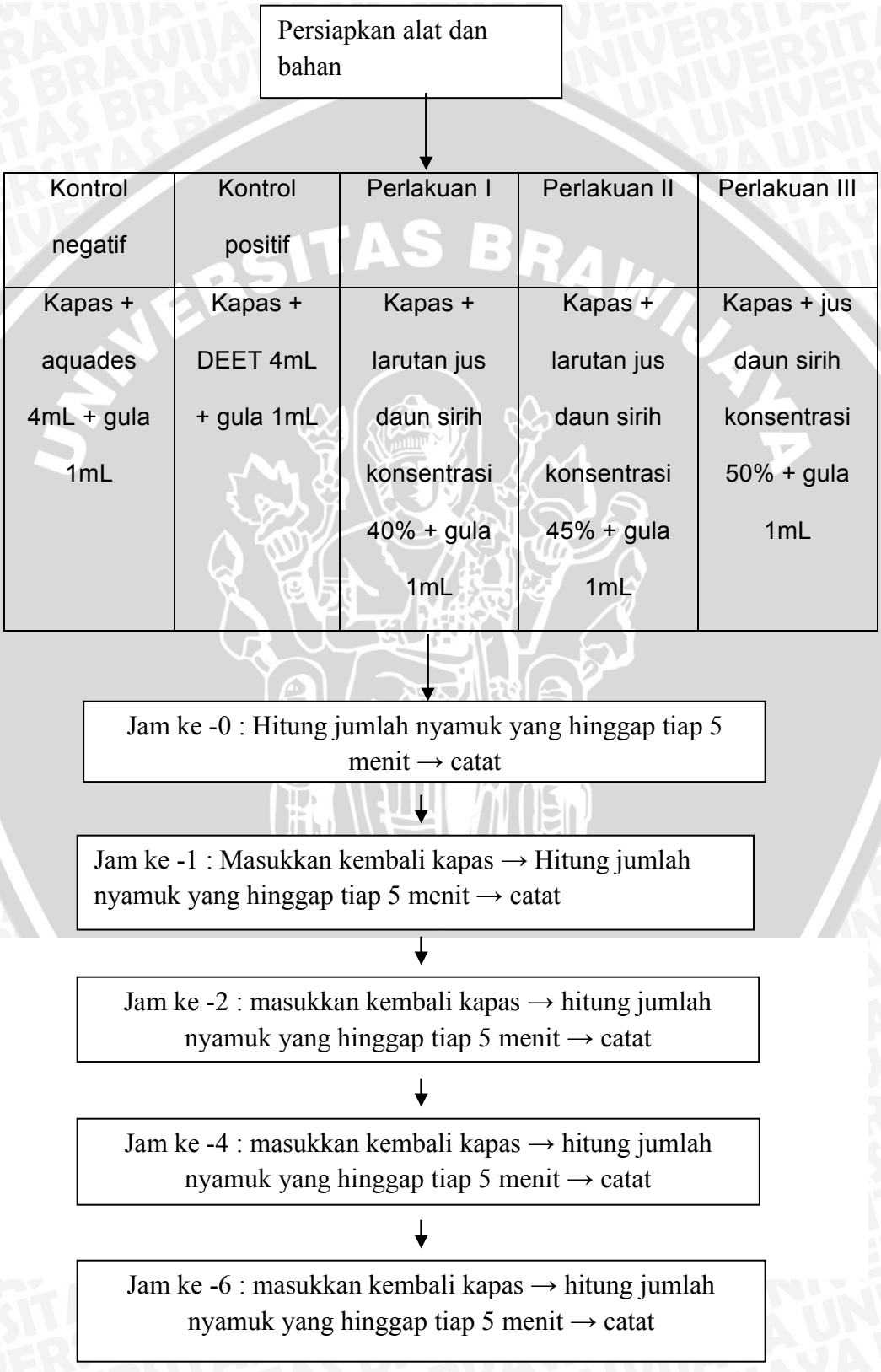
- Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali yang berarti dilakukan selama empat hari kemudian dicatat hasilnya.
- Presentase kemampuan *repellent* dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\frac{nc - r}{nc} x100\%$$

Keterangan :

- nc : jumlah nyamuk yang hinggap pada kontrol negatif
- r : jumlah nyamuk yang hinggap pada kapas yang ditetesi larutan jus daun sirih dan gula cair pada konsentrasi 40%, 45%, 50%.

4.7.2 Alur Penelitian



4.8 Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan jumlah hinggapan nyamuk tiap jam pada tiap perlakuan dan konsentrasi jus daun sirih yang diberikan.

Kemudian persentasi potensi jus daun sirih sebagai *repellent* dihitung dengan menggunakan rumus formula Abbot sebagai berikut :

P = $\frac{nc - r}{nc} x100\%$

Sebelum menganalisis data potensi repellent dengan uji *Oneway* ANOVA, dilakukan pengujian syarat *Oneway* ANOVA, yaitu :

1. Syarat *Oneway* ANOVA untuk lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan harus terpenuhi yaitu sebaran data harus normal, varian data harus identik (homogen).
2. Jika tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya sebaran menjadi normal dan varian menjadi identik.
3. Jika variabel hasil transformasi tidak terdistribusi normal atau varians tetap tidak identik, maka alternatif dipilih uji nonparametrik Kruskal-Wallis.
4. Jika pada uji *Oneway* ANOVA atau Kruskal-Wallis menghasilkan nilai p < 0,05, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *post hoc* yaitu dengan uji *Turkey* HSD (untuk *Oneway* ANOVA) atau uji Mann-Whitney (untuk Kruskal-Wallis)

(Budiarto, 2006).

Uji Kruskal-Wallis digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan potensi antar kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan potensi. Uji korelasi *Spearman* digunakan untuk mengetahui hubungan antara besarnya konsentrasi jus daun sirih (*Piper betle L.*) dengan potensi *repellent* serta hubungan antara lamanya waktu perlakuan dengan potensi *repellent.*

4.9 Jadwal Kegiatan

Penelitian ini direncanakan kegiatannya dengan rincian sebagai berikut:

Tahap studi pustaka	: 2 minggu
Tahap pembuatan jus daun sirih	: 2 hari
Tahap pengujian jus daun sirih	: 4 hari
Tahap pengolahan data	: 1 bulan
Tahap penyusunan laporan akhir	: 1 bulan