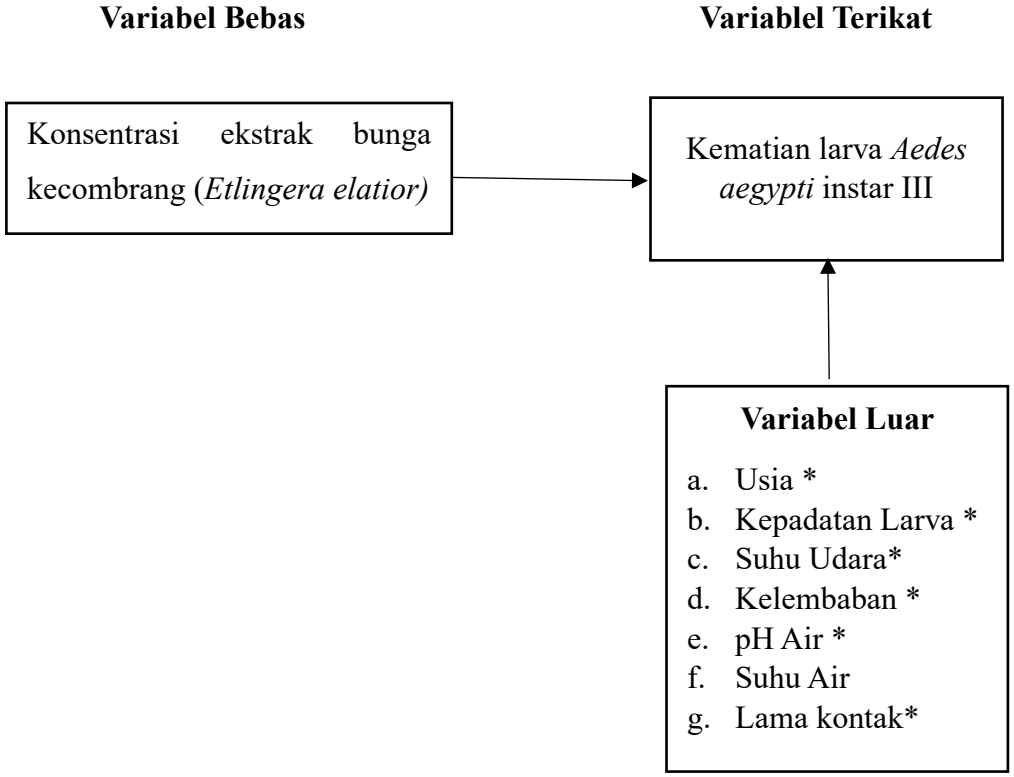
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

*) : Variabel yang dikendalikan

B. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu:

1. Terdapat perbedaan efektivitas ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* pada konsentrasi 0% (kontrol), 2%, 4%, 6%, dan 8% sebagai larvasida nabati terhadap kematian larva *Aedes aegypti* instar III.

2. Terdapat konsentrasi terbaik ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

   Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan menggunakan konsentrasi kontrol (0%), 2%, 4%, 6% dan 8%.

2. Variabel Terikat

   Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

3. Variabel Luar

   Variabel luar dalam penelitian ini adalah usia larva *Aedes aegypti*, kepadatan larva, kelembaban, suhu dan pH. Dalam penelitian ini, peneliti berupaya untuk mengendalikan variabel luar dengan cara sebagai berikut :

   a. Usia

      Usia larva yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang berumur 3-4 hari. Larva instar III dipilih karena ukurannya cukup besar sehingga mudah untuk diidentifikasi. Menurut (Rahmawati, 2017) larva instar III seringkali dipakai dalam penelitian larvasida dikarenakan cukup mewakili kondisi larva nyamuk secara keseluruhan dan larva ini merupakan bentuk larva yang aktif mencari makan dan bergerak.

b. Kepadatan Larva

Kepadatan larva dikendalikan dengan cara menyamakan jumlah volume aquades yang digunakan sebanyak 100 ml.

c. Kelembaban

Kelembaban dikendalikan dengan cara dilaksanakan pada ruangan tertutup dalam kelembaban 60%-80%.

d. Suhu Udara

Suhu udara dikendalikan dengan cara dilaksanakan pada ruang tertutup pada suhu ruangan 25ºC-27ºC.

e. pH Air

pH air dikendalikan dengan menyamakan pH yaitu pada pH 5,8-8,6.

f. Suhu Air

Suhu air uji larvasida dikendalikan pada suhu 25ºC-30ºC.

g. Lama Kontak

Semakin lama kontak larva dengan ekstrak, maka semakin tinggi kematian larva *Aedes aegypti*.

D. Definisi Operasional

Tabel 3.1
Definisi Operasional Dan Skala Pengukuran Variabel

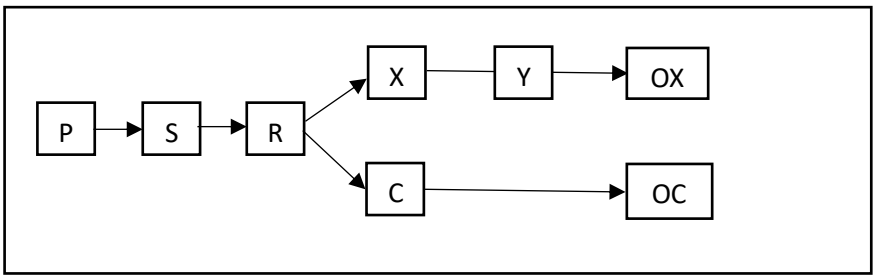
Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Alat Ukur	Skala
Variabel Bebas				
Ekstrak bunga kecombrang	Pemberian hasil ekstrak	Menghitung menggunakan rumus	Gelas ukur dan pipet tetes	Nominal:

(*Etlingera elatior)* dengan berbagai konsentrasi	bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan berbagai konsentrasi menggunakan metode maserasi etanol 70% selama 3x24 jam	pengenceran yaitu $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$		1= Konsentrasi ekstrak 0% (Kontrol) 2= Konsentrasi ekstrak 2% 3= Konsentrasi ekstrak 4% 4= Konsentrasi ekstrak 6% 5= Konsentrasi ekstrak 8% (WHO, 2005)
Variabel Terikat				
Kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*	Jumlah kematian larva *Aedes aegypti* dalam waktu 6 jam ditandai dengan larva yang tidak bergerak setelah diberikan perlakuan.	Dihitung manual dengan satuan ekor menggunakan pipet dan senter	Lembar observasi penelitian	Rasio (Liwan, 2019)

E. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen murni *(true eksperimental)* dengan rancangan *post test only control group design.* Eksperimen merupakan metode penelitian kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui atau menguji pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen dalam kondisi yang dikendalikan (Sugiyono, 2020).

Desain penelitian digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3.2 Skema Rancangan Penelitian
(Modifikasi : Sugiyono, 2020)

Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

X : Kelompok Eksperimen

C : Kelompok Kontrol

Y : Perlakuan (ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8%)

OX : Observasi Kelompok Eksperimen

OY : Observasi Kelompok Kontrol

F. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan elemen baik objek atau subjek untuk dijadikan wilayah inferensi atau generalisasi (Cooper *et al*, 2006 dalam Sugiyono, 2020). Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh larva *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari Laboratorium B2P2VRP Salatiga.

2. Sampel

Sampel merupakan bagian dari jumlah karakteristik yang dimiliki oleh populasi. Sampel dalam penelitian ini yaitu larva *Aedes aegypti* instar III. larva instar III merupakan sampel penelitian yang menjadi standar WHO. Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan standar WHO (2005), yaitu 25 larva *Aedes aegypti* dengan 5 perlakuan. Untuk menghindari bias, jumlah pengulangan diulang menurut rumus Frederer.

$$(t-1)\,(r-1) > 15$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok perlakuan

r : Jumlah pengulangan

Perhitungan pengulangan sebagai berikut :

$(t-1)\,(r-1) > 15$

$(5-1)\,(r-1) > 15$

$4(r-1) > 15$

$4r-4 > 15$

$4r > 19$

$r > 4{,}75$ dibulatkan menjadi 5

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut diketahui bahwa jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 625 sampel. Dalam penelitian ini setiap kelompok direplikasi dengan 5 kali perlakuan dan 5 kali pengulangan. Sehingga jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut:

Tabel 3.2
Jumlah Larva dalam Penelitian

Kelompok Perlakuan	**Jumlah larva *Aedes aegypti* x jumlah pengulangan**	**Total Larva**
Kelompok 1 kontrol (-) (aquades) : 0%	25 larva x 5	125
Kelompok 2 ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* : 2%	25 larva x 5	125
Kelompok 3 ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* : 4%	25 larva x 5	125
Kelompok 4 ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* : 6%	25 larva x 5	125
Kelompok 5 ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* : 8 %	25 larva x 5	125
Jumlah larva yang digunakan dalam penelitian		625

Pada penelitian ini dilakukan randomisasi pada *layout* wadah sampel yang akan diberikan perlakuan. Adapun *layout* penempatan wadah sampel yaitu :

Tabel 3.3
Layout Penempatan Wadah Sampel

A1	B1	C1	D1	E1
A2	B2	C2	D2	E2
A3	B3	C3	D3	E3
A4	B4	C4	D4	E4
A5	B5	C5	D5	E5

Keterangan :

A : Konsentrasi 0%

B : Konsentrasi 2%

C : Konsentrasi 5%

1 : Replikasi ke-1

2 : Replikasi ke- 2

3 : Replikasi ke- 3

D : Konsentrasi 8% 4 : Replikasi ke- 4

E : Konsentrasi 10% 5 : Replikasi ke- 5

G. Kriteria Insklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan dalam penentuan sampel sebagai berikut :

1. Kriteria Insklusi
   a. Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III berumur 3-4 hari.
   b. Larva nyamuk *Aedes aegypti* bergerak aktif.
2. Kriteria Eksklusi
   a. Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar I, II, IV.
   b. Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang sudah menjadi pupa.
   c. Larva nyamuk *Aedes aegypti* yang sudah mati sebelum penelitian.

H. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengumpulkan data dalam penelitian yang digunakan sesuai dengan tujuan penelitian dan teori yang digunakan sebagai dasar (Purwanto, 2018). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kematian larva *Aedes aegypti*. Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah lembar observasi. Lembar observasi digunakan untuk mencatat hasil penelitian yang dilakukan seperti jumlah kematian larva berdasarkan waktu pengamatan, jumlah kematian larva berdasarkan pemberian konsentrasi ekstrak, pH dan suhu.

I. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut:

1. Tahap Pengumpulan Data
   a. Data Primer

      Data primer didapatkan dari hasil pengamatan berupa kematian larva *Aedes aegypti* yang telah diberi perlakuan selama 6 jam. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium B2P2VRP Salatiga.

   b. Data Sekunder

      Data sekunder dalam penelitian ini yaitu mengenai kasus DBD yang diperoleh dari Infodatin, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2017, Profil Kesehatan Indonesia tahun 2020 dan 2021, serta data jumlah kasus DBD di kota Tasikmalaya tahun 2020 dan 2021.

2. Tahap Persiapan Penelitian
   a. Pembuatan Ekstraksi

      Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan peralatan yang digunakan untuk pembuatan ekstraksi bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dan peralatan yang digunakan untuk uji ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.

      1) Peralatan ekstraksi bunga kecombrang (*Etlingera elatior)*

         Berikut ini merupakan peralatan yang digunakan untuk pembuatan ekstraksi bunga kecombrang (*Etlingera elatior) :*

a) Timbangan digital, digunakan untuk menimbang bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*
b) Pisau, digunakan untuk memotong bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*
c) Talenan, digunakan untuk alas memotong bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*
d) Kertas nasi, digunakan untuk alas bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang sudah dipotong-potong.
e) Nampan, digunakan untuk tempat bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang akan dikeringkan.
f) Blender, digunakan untuk menghaluskan bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang telah dikeringkan.
g) Sarung tangan, digunakan untuk alat pelindung diri.
h) Saringan, digunakan untuk menyaring bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang telah dihaluskan.
i) Gelas ukur, digunakan untuk mengukur konsentrasi etanol 70% pada proses maserasi bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*
j) Toples kaca, digunakan untuk menyimpan proses maserasi bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*
k) Pengaduk, digunakan untuk mengaduk simplisia bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang direndam etanol 70%.
l) Kertas saring, digunakan untuk menyaring bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang direndam dengan etanol 70%.

m) Corong, digunakan untuk memindahkan rendaman bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* pada saat maserasi.

n) Plastik *wrap*, digunakan untuk membungkus toples kaca yang berisi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*

o) Kertas label, digunakan untuk memberi identitas pada toples kaca yang berisi hasil maserasi bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*

2) Peralatan uji efektivitas

a) 25 *cup test* yang digunakan untuk tempat larva *Aedes aegypti* sebelum dilakukan perlakuan.

b) 25 gelas ukur 250 ml untuk mencampur konsentrasi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan aquades.

c) 1 gelas ukur 1000 ml digunakan untuk menyimpan aquades.

d) 3 pipet digunakan untuk mengambil jumlah larutan konsentrasi bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dan untuk merangsang kematian larva *Aedes aegypti* instar III pada larutan yang berisi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*

e) pH meter digunakan untuk mengukur pH air pada media uji yang akan digunakan.

f) *Clock thermometer* digunakan untuk mengukur suhu ruangan dan kelembaban ruangan.

g) *Dipper/*cidukan digunakan untuk mengambil larva *Aedes aegypti* instar III.

h) Batang pengaduk digunakan untuk mengaduk atau mencampur aquades dengan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*

i) Arloji atau jam digunakan untuk mengitung waktu pengamatan kematian larva *Aedes aegypti* instar III

j) Senter digunakan untuk menyinari saat mengamati larva *Aedes aegypti* instar III.

k) Kertas label digunakan untuk memberi identitas pada *cup test* dan gelas ukur.

l) Alat tulis dan lembar observasi digunakan untuk mencatat hasil pengamatan.

m) Kamera digunakan untuk mengambil dokumentasi pada saat penelitian.

3) Bahan

Bahan yang digunakan untuk ektraksi dan bahan yang digunakan untuk uji larva *Aedes aegypti*, yaitu :

a) Bahan untuk ektraksi

1) Bunga kecombrang (*Etlingera elatior).*

2) Etanol 70%.

b) Bahan untuk uji larva *Aedes aegypti* instar III

1) Larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 625 ekor.

2) Ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan konsentrasi 0% (kontrol), 2%, 4%, 6% dan 8%.

3) Aquades

3. Tahap Pelaksanaan Pembuatan Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Langkah-langkah ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi :

a. Menyediakan alat dan bahan yang akan digunakan.
b. Bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dicuci bersih menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada bunga kecombrang.
c. Bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* kemudian dipotong kecil dan disimpan pada nampan yang sudah dialasi kertas minyak.
d. Mengeringkan bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan cara diangin-anginkan secara alami pada suhu ruangan.
e. Bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.
f. Serbuk bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* ditimbang menggunakan timbangan digital.
g. Serbuk bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* kemudian dimaserasi selama 3x24 jam menggunakan larutan etanol 70% dalam toples kaca yang ditutup rapat menggunakan *plastic wrap.*
h. Letakan toples kaca di dalam tempat yang gelap untuk mengindari pelarut menguap.

i. Menyaring bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang telah dimaserasi menggunakan kertas saring setiap 1 hari sekali selama 3 hari. Hasil dari ampas ekstrak ini kemudian direndam lagi dengan cairan etanol.

j. Hasil larutan bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang telah di maserasi selama 3x24 jam kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50^{o}C dengan titik didih 7^{o}C, sehingga menghasilkan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* konsentrasi 100%.

k. Ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* kemudian disimpan di dalam lemari pendingin untuk menghindari larutan terkontaminasi dan tetap awet.

4. Tahap Persiapan Uji Larvasida

a. Penghitungan jumlah konsentrasi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior).* Penghitungan jumlah konsentrasi yang diperlukan yaitu :

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

Keterangan :

V1 : Volume larutan yang diencerkan (ml)

M1 : Konsentrasi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang tersedia (%)

V2 : Volume larutan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang diperlukan (ml)

M2 : Konsentrasi ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* yang dibuat (%)

b. Mengukur suhu ruangan dan kelembaban menggunakan *clock thermometer* sebelum menguji larvasida.
c. Membuat kontrol dengan menyediakan 100 ml aquades dalam gelas ukur 250 ml.
d. Membuat campuran larvasida nabati dan aquades dengan berbagai konsentrasi yang diperlukan.
e. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* instar III yang ditempatkan di dalam 25 *cup tes*
f. Uji Larvasida

Uji larvasida dilakukan dengan mengambil larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 25 larva menggunakan *dipper,* kemudian larva dimasukkan ke dalam gelas ukur yang telah dimasukkan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior)* dengan berbagai konsentrasi yang akan digunakan. Langkah-langkahnya sebagai berikut :

1. Kelompok 1

   Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam 100 ml aquades pada setiap replikasi yang akan dilakukan.

2. Kelompok 2

   Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam larutan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan konsentrasi 2% diperoleh dari + 98 ml larutan aquades.

   $V_1M_2 = V_2M_2$

   V_1 X 100% = 100 ml x 2%

$V_1 = 200/100$

$V_1 = 2$ ml

3. Kelompok 3

   Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam larutan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan konsentrasi 4% diperoleh dari + 96 ml larutan aquades.

   $V_1M_2 = V_2M_2$

   V_1 X 100% = 100 ml x 4%

   $V_1 = 400/100$

   $V_1 = 4$ ml

4. Kelompok 4

   Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam larutan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan konsentrasi 6% diperoleh dari + 94 ml larutan aquades.

   $V_1M_2 = V_2M_2$

   V_1 X 100% = 100 ml x 6%

   $V_1 = 600/100$

   $V_1 = 6$ ml

5. Kelompok 5

   Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam larutan ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan konsentrasi 8% diperoleh dari + 92 ml larutan aquades.

   $V_1M_2 = V_2M_2$

V_1 X 100% = 100 ml x 8%

V_1 = 800/100

V_1 = 8 ml

g. Mengukur pH air dan suhu air pengujian larva menggunakan pH meter

h. Menunggu dan mengamati perkembangan dan kematian larva *Aedes aegypti* instar III selama 6 jam. Pengamatan dilakukan pada jam ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5 dan ke-6.

i. Menghitung larva yang mati sesuai dengan waktu pengamatan.

j. Menentukan larva yang hidup atau mati dengan cara menyinarinya menggunakan senter dan memberikan rangsangan berupa gerakan, kemudian dilihat bahwa larva tetap diam atau bergerak untuk dapat menentukan kematian larva tersebut.

k. Menghitung jumlah dan kematian larva *Aedes aegypti* selama 6 jam.

l. Mengukur kembali suhu air, pH air dan kelembaban ruangan.

m. Mencatat hasil pengamatan dalam lembar penelitian.

J. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. *Editing* (Pemeriksaan Data)

Editing atau pemeriksaan data merupakan suatu upaya untuk memeriksa data yang diperoleh dari hasil pengukuran untuk mempermudah dalam pengolahan data. *Editing* dalam penelitian ini

adalah memeriksa hasil kematian larva *Aedes aegypti* pada saat uji pemberian ekstrak.

b. *Entry data* (Memasukkan Data)

Entry data dilakukan dengan memasukkan data yang sudah diperoleh ke dalam *software* SPSS.

c. *Tabulating* (Tabulasi)

Tabulasi merupakan kegiatan untuk membuat tabel sesuai dengan tujuan penelitian yang akan dilakukan (Notoatmodjo, 2010).

2. Analisis Data

a. Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif merupakan metode analisis statistik yang digunakan untuk menganalisis suatu data berdasarkan karakteristik dari setiap variabel. Dalam penelitian ini dilakukan analisis deskriptif terhadap variabel kematian larva *Aedes aegypti*. Analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu persentase, standar deviasi dan analisis probit. Analisis probit digunakan untuk mengetahui *Letal Consentration* (LC) guna mengetahui toksisitas yang menyebabkan kematian pada larva *Aedes aegypti* instar III. Analisis probit untuk mengetahui estimasi dosis larvasida yang dapat menyebabkan kematian pada larva *Aedes aegypti* dengan menggunakan 50% (LC_{50}) dan 90% (LC_{90}).

b. Analisis Inferensial

Analisis inferensial merupakan metode analisis statistik untuk mengetahui hubungan antara variabel, atau terdapat pengaruh diantara variabel. Sebelum melaksanakan analisis inferensial, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas yang digunakan untuk mengetahui apakah variabel kematian larvasida *Aedes aegypti* terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji shapiro-wilk, karena sampel yang digunakan jenis data numerik dan diambil secara random serta sampel data dalam penelitian ini yaitu <30. Setelah itu dilaksanakan uji untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kecombrang.

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji shapiro wilk diketahui bahwa data berdistribusi normal dengan nilai *p* sebesar 0,013 ($p \geq 0{,}005$). Oleh karena itu, berdasarkan hasil uji normalitas, data memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik maka analisis inferensial yang digunakan untuk menganalisis data yaitu uji *One-way Anova* dan uji lanjutan Post Hoc LSD (*Least Significant Difference).* Adapun untuk keputusan pengambilan hipotesis (Ho) diterima atau ditolak berdasarkan besarnya nilai signifikan. Jika nilai signifikan lebih kecil atau sama dengan 0,05 ($\leq 0{,}05$) maka hipotesis diterima.