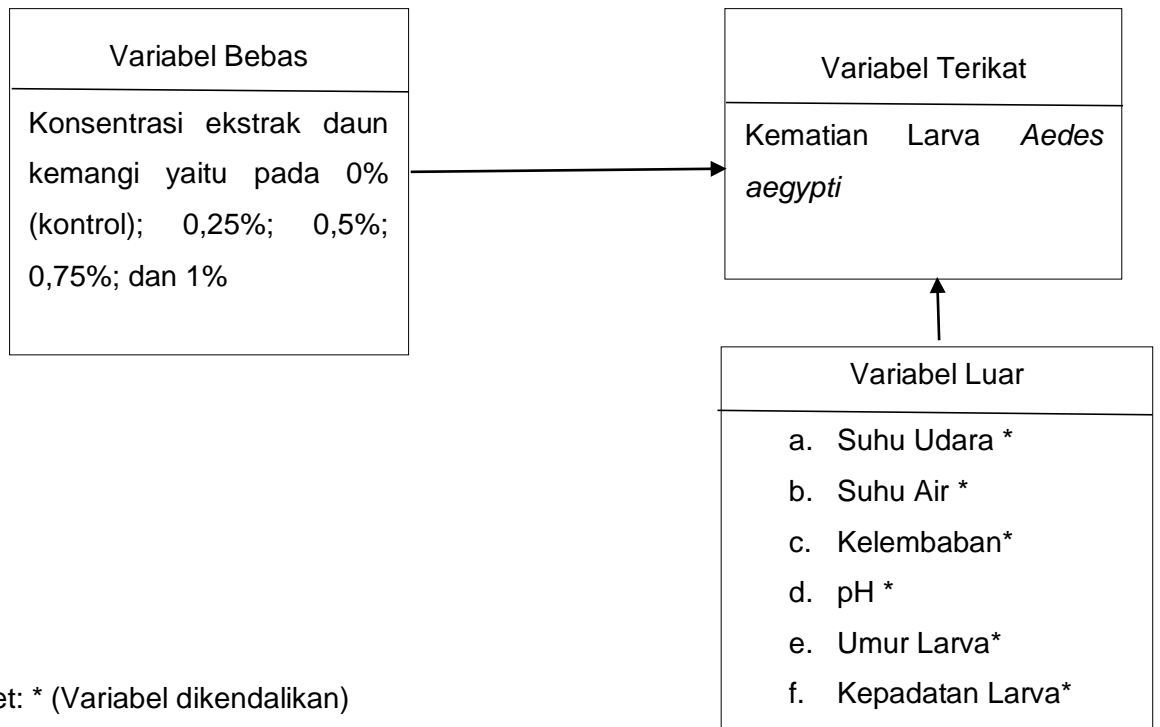


BAB III
METODE PENELITIAN

A. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

B. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada perbedaan pemberian larvasida ekstrak daun kemangi dengan berbagai konsentrasi terhadap kematian larva *Aedes aegypti*
2. Terdapat konsentrasi terbaik ekstrak daun kemangi sebagai larvasida terhadap kematian larva *Aedes aegypti*.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun kemangi yaitu kontrol; 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah kematian larva *Aedes aegypti*

3. Variabel Luar

a. Suhu Udara

Suhu udara dikendalikan dengan mengatur suhu ruangan yang sesuai untuk perkembangan larva yaitu 26°C.

b. Suhu Air

Suhu air yang digunakan dalam uji dikendalikan dengan menggunakan air yang sama pada suhu standar kehidupan larva yaitu 26-27°C.

c. Kelembaban

Kelembaban udara dikendalikan dengan menyamakan tempat berlangsungnya penelitian yang sesuai untuk kelangsungan hidup larva yaitu > 60%

d. pH

pH disesuaikan untuk perkembangan larva *Aedes aegypti* berada pada rentang 4-10.

e. Umur Larva

Umur larva dikendalikan dengan menyamakan umur larva yang digunakan dalam penelitian yaitu instar III

f. Kepadatan Larva

Kepadatan larva dikendalikan dengan menyamakan jumlah larva, dan volume air yang digunakan yaitu 200 ml.

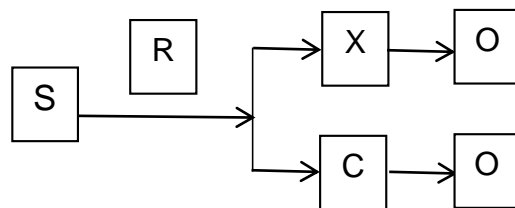
D. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional Variabel

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas					
Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi	Ekstrak daun kemangi adalah hasil dari proses ekstraksi dengan maserasi etanol 96% selama 3x24 jam, dengan jumlah ekstrak daun kemangi yang ditambahkan sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, dan 2 ml. (Hanani, 2014)	Menghitung sediaan hasil ekstraksi dengan rumus $V1 \times M1 = V2 \times M2$	Gelas ukur dan pipet tetes	Ekstrak daun kemangi dengan variasi konsentrasi 0%; 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%.	Nominal
Variabel Terikat					
Kematian larva <i>Aedes aegypti</i>	Jumlah kematian pada larva <i>Aedes aegypti</i> ditandai dengan larva tidak bergerak atau tidak memiliki respon terhadap rangsangan setelah diberi perlakuan	Dihitung manual	Lembar observasi penelitian	Rata-rata kematian larva	Rasio

E. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan *post test only control group design*. Mengamati hasil dari perlakuan terhadap kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Desain penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.2 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Sampel (Larva *Aedes aegypti*)

R : Randomisasi (dipilih secara acak)

X : Perlakuan (ekstrak daun kemangi dengan konsentrasi 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%)

C : Kontrol 0% (aquades)

O : Observasi (pengamatan)

Adapun layout penempatan seluruh wadah sampel dilakukan dengan rancangan acak lengkap, dan dalam penelitian yang akan dilaksanakan layout penelitian seperti tertera dalam gambar sebagai berikut:

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

Gambar 3.3 Layout Penelitian

Keterangan :

A = Kelompok kontrol

B = Perlakuan Konsentrasi 0,25%

C = Perlakuan Konsentrasi 0,5%

D = Perlakuan Konsentrasi 0,75%

E = Perlakuan Konsentrasi 1%

1 = Replikasi ke-1

2 = Replikasi ke-2

3 = Replikasi ke-3

4 = Replikasi ke-4

5 = Replikasi ke-5

F. Populasi Dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua larva *Aedes aegypti* instar III yang berada di Loka Litbangkes Pangandaran.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III berjumlah 625 larva. Dalam penelitian ini terdapat 5 perlakuan (0%; 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%) dan 5 pengulangan setiap kelompok perlakuan menggunakan sampel sebanyak 25 larva disesuaikan dengan pertimbangan untuk eksperimen menurut WHO yaitu 20-25 ekor (WHO, 2005).

Dalam penelitian ini untuk menghindari hasil yang bias maka dilakukan pengulangan menggunakan rumus Federrer dengan perhitungan sebagai berikut :

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

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$5r - 5 - r + 1 \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75 \text{ dibulatkan menjadi } 5$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

G. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan cara mengamati dan menghitung kematian larva *Aedes aegypti* yang telah terpapar ekstrak daun kemangi pada jam ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 dan 24 jam dengan berbagai konsentrasi.

H. Instrumen Penelitian

1. Alat penelitian

Alat penelitian dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu alat yang digunakan dalam proses ekstraksi dan alat yang digunakan untuk penelitian.

a. Alat untuk ekstraksi daun kemangi

- 1) Timbangan
- 2) Nampan
- 3) Blender
- 4) Toples kaca
- 5) Pengaduk
- 6) Gelas kimia
- 7) Gelas ukur
- 8) Aluminium *foil*
- 9) Kain saring
- 10) Saringan
- 11) Rotary Evaporator

b. Alat untuk penelitian

- 1) Gelas plastik
- 2) Pipet

- 3) Pengaduk
- 4) Gelas kimia
- 5) Keras label
- 6) Gelas ukur
- 7) Saringan

2. Bahan Penelitian

a. Bahan untuk Ekstraksi daun kemangi

- 1) Daun Kemangi
- 2) Etanol 96%

b. Bahan untuk penelitian

- 1) Larva *Aedes aegypti* instar III
- 2) Ekstrak daun kemangi
- 3) Aquades

I. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak

Daun kemangi yang akan diekstrak dicuci bersih, kemudian dibiarkan beberapa saat dan daun kemangi dipisahkan dari batangnya. Lalu dikeringkan dengan cara dianginkan secara alami pada suhu kamar. Daun kemangi yang sudah kering diblender sampai menjadi serbuk, ditimbang, kemudian dilakukan proses maserasi (perendaman) dengan memasukkan serbuk ke dalam toples kaca, ditambahkan etanol 96% sampai menutupi permukaan. Metode maserasi ini merupakan metode ekstraksi yang sederhana dan bersifat dingin, artinya tidak menggunakan pemanasan dan perendaman dilakukan pada suhu ruang, simplisia daun kemangi yang

sudah halus direndam dalam etanol 96% sampai menutupi permukaan dan melunakkan susunan sel sehingga senyawa didalamnya akan terlarut.

Etanol 96% dipilih karena pelarut ini bersifat polar, dimana umumnya zat aktif yang terkandung dalam tanaman bersifat polar sehingga etanol mampu menarik zat-zat aktif yang terkandung dalam daun kemangi. Etanol juga bersifat lebih selektif, netral, absorbs baik serta sangat efektif dalam menarik bahan-bahan aktif tersebut dengan optimal.

Proses maserasi dalam penelitian ini selama 3 x 24 jam, mulai tanggal 23 – 25 April 2019. Maserasi pertama menggunakan simplisia daun kemangi sebanyak 237 gram dengan jumlah etanol 96% yang digunakan sampai menutupi permukaan simplisia sebanyak 1 liter, maserasi kedua menggunakan etanol sebanyak 550 ml dan maserasi ketiga sebanyak 500 ml. Setelah direndam selama 24 jam simplisia kemudian disaring dipisahkan ampas dan cairannya, ampas kemudian direndam kembali menggunakan etanol yang baru. Cairan hasil maserasi dikumpulkan dan disimpan dalam botol kaca, serta ditutup rapat menggunakan *aluminium foil* dan *plastic wrap*.

Penguapan dilakukan pada tanggal 29 April 2019 menggunakan *rotary evaporator* di Laboratorium Farmasi STIKes BTH untuk pemisahan pelarut dengan titik didih 68-78°C, ekstrak cair hasil penguapan inilah yang digunakan dalam penelitian, ekstrak cair daun kemangi yang dihasilkan sebanyak 150 ml. Jumlah ekstrak yang dibutuhkan untuk pra penelitian sebanyak 78 ml dan 25 ml untuk penelitian sesungguhnya. Ekstrak disimpan dalam lemari pendingin dengan ditutup rapat untuk menghindari kontaminasi serta menjaga stabilitas ekstrak dan metabolit yang ada didalamnya, ekstrak tidak disimpan dalam *freezer* bersuhu 0°C karena dapat menyebabkan

munculnya *coliform* positif yang cukup tinggi. Ekstrak daun kemangi mampu bertahan sampai 1 tahun karena mengandung minyak atsiri sebagai antimikroba

2. Tahap Persiapan

- a. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* yang telah dipelihara oleh Loka Litbangkes Pangandaran.
- b. Menyiapkan *aquades* sebagai pelarut dalam penelitian ini.
- c. Menyiapkan Larutan Uji

Larutan stok ekstrak daun kemangi akan diencerkan dengan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V1.M1=V2.M2$$

Keterangan :

V1= Volume larutan mula-mula (ml)

M1= Konsentrasi larutan mula-mula (%)

V2= Volume larutan sesudah diencerkan (ml)

M2= Konsentrasi larutan sesudah diencerkan (%)

Membuat larutan ekstrak daun kemangi dengan masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%. Setiap konsentrasi dibuat dengan cara mengambil ekstrak daun kemangi menggunakan pipet masing-masing 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, dan 2 ml kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur, tambahkan *aquades* sampai volume larutan 200 ml, sehingga larutan tersebut mempunyai konsentrasi 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%.

Tabel 3.2. Jumlah Ekstrak Daun Kemangi yang Dibutuhkan

M1	V2	M2	V1	Pengulangan (V1 x 5)
100%	200 ml	0,25%	0,5 ml	2,5 ml
100%	200 ml	0,5%	1 ml	5 ml
100%	200 ml	0,75%	1,5 ml	7,5 ml
100%	200 ml	1%	2 ml	10 ml
Total				25 ml

- d. Menyiapkan 25 buah gelas uji sebagai wadah larutan dalam penelitian ini, 5 gelas uji untuk kontrol dimana tidak diberi perlakuan dan 20 gelas uji untuk perlakuan.
 - e. Menyiapkan alat pengaduk untuk menyentuh larva agar diketahui ada respon atau tidak.
 - f. Menyiapkan alat penghitung (*counter*) untuk menghitung larva yang mati.
3. Tahap Uji Penelitian
- a. Masukkan ekstrak daun kemangi yang telah diencerkan ke dalam 25 gelas uji perlakuan dengan masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan.
 - b. 5 gelas uji sebagai kontrol hanya diisi aquades sebanyak 200 ml.
 - c. Siapkan 25 gelas uji dan masukkan larva ke setiap wadah masing-masing berisi 25 ekor larva.
 - d. Mengamati dan mencatat jumlah kematian larva pada kelompok kontrol dan masing-masing kelompok perlakuan setelah dikontakkan dengan ekstrak daun kemangi yang diamati pada jam ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 dan 24 jam. Larva yang dianggap mati apabila larva diberi rangsangan berupa gerakan air tidak ada respon gerakan, dan larva disentuh dengan alat pengaduk tidak ada respon gerakan.

J. Pengolahan dan Analisis data

Setelah diperoleh data jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati, maka dilakukan beberapa proses pengolahan data, seperti memeriksa kelengkapan data, proses input data, dan analisis data dengan menggunakan SPSS, hasil dari analisis secara statistik disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

1. Analisis Deskriptif

Analisis yang digunakan dengan menjabarkan secara deskriptif variabel-variabel yang diteliti dan hasil pengukuran selama penelitian.

2. Analisis Inferensial

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak, sehingga dapat diputuskan kemungkinan analisis uji yang digunakan yaitu statistik parametrik atau non parametrik.

Tabel 3.3. Hasil Uji Normalitas Data

Kematian Larva	Konsentrasi (%)	Shapiro-wilk		
		Statistic	Df	Sig.
	0,25	0,881	5	0,315
	0,5	0,552	5	0,000

Berdasarkan kriteria hasil uji *Shapiro-wilk* yaitu apabila nilai Sig > 0,05 maka data berdistribusi normal, sedangkan apabila nilai Sig ≤ 0,05 data tidak berdistribusi normal. Hasil uji normalitas yang telah dilakukan menunjukkan konsentrasi 0,25% berdistribusi normal dan konsentrasi 0,5% memiliki nilai $p \leq 0,05$ sehingga berdistribusi tidak normal. Kontrol, konsentrasi 0,75% dan 1% tidak muncul saat dianalisis karena jumlah kematian larva pada ketiga konsentrasi tersebut bersifat konstan dan berjumlah sama.

Karena hasil analisis menunjukkan terdapat nilai $p \leq 0,05$ maka tidak memenuhi syarat untuk uji statistik parametrik, dan dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi tidak normal, sehingga analisis dilanjutkan dengan menggunakan statistik non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun kemangi terhadap kematian larva. Kemudian dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar konsentrasi ekstrak daun kemangi yang digunakan dan menemukan konsentrasi yang memiliki pengaruh paling baik.

Analisis probit digunakan untuk mengetahui LC_{50} dan LC_{90} , LC_{50} untuk menilai toksisitas larvasida, dan LC_{90} digunakan untuk menilai efektivitas larvasida ekstrak daun kemangi.