

### BAB 3

#### METODE PENELITIAN

##### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental, yaitu untuk mengetahui pengaruh larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) terhadap aktivitas nyamuk *Culex* sp.

Penelitian eksperimental *posttest-only control design* dengan menggunakan post berdasarkan Notoatmodjo (2012) dan di modifikasi sebagai berikut :

**Tabel 3.1 Rancangan Penelitian**

| Sampel | Kelompok     | Perlakuan | Post test |
|--------|--------------|-----------|-----------|
| Random | Kontrol      | X0        | O0        |
|        | Eksperimen 1 | X1        | O1        |
|        | Eksperimen 2 | X2        | O2        |
|        | Eksperimen 3 | X3        | O3        |

Keterangan:

R : Random (Pengambilan sampel secara acak)

X0 : Perlakuan konsentrasi ekstrak daun rambutan (*Dieffenbachia bowmanni*)  
0% (kontrol negatif)

X1 : Perlakuan konsentrasi ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)  
50%

X2 : Perlakuan konsentrasi ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)  
100%

- X3 : Perlakuan obat nyamuk cair elektrik (kontrol positif)
- O0 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi ekstrak daun bahagia  
(*Dieffenbachia bowmanni*) 0%
- O1 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi ekstrak daun bahagia  
(*Dieffenbachia bowmanni*) 50%
- O2 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi ekstrak daun bahagia  
(*Dieffenbachia bowmanni*) 100%
- O3 : Observasi setelah perlakuan obat nyamuk cair elektrik

## 3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah nyamuk *Culex* sp yang dibiakkan dari telur nyamuk *Culex* sp yang dibeli dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang diperiksa adalah nyamuk *Culex* sp. Banyaknya replikasi yang dilakukan pada setiap perlakuan dihitung menggunakan rumus :

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

$$(r-1)(4-1) \leq 15$$

$$(3r-3) \leq 15$$

$$3r > 15+3$$

$$3r > 18$$

$$r > 6$$

(Notoatmodjo, 2012)

Keterangan :

r : Replikasi atau pengulangan

t : Perlakuan

Dari rumus tersebut diperoleh hasil replikasi sebesar 6 replikasi. Kemudian besar keseluruhan sampel pada penelitian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Besar sampel} &= \sum \text{perlakuan} \times \sum \text{replikasi} \times \sum \text{sampel/satuan} \\ &= 4 \times 6 \times 10 \\ &= 240 \text{ ekor nyamuk}\end{aligned}$$

Jadi, besar sampel nyamuk *Culex sp* yang dibutuhkan adalah sebanyak 240 ekor nyamuk.

Setiap perlakuan dibutuhkan 10 ekor nyamuk. Replikasi dilakukan secara random/acak kelompok. Dalam setiap harinya, dilakukan kocokan kode urutan perlakuan. Pada kode perlakuan yang muncul, kode tersebut yang akan dilakukan perlakuan.

### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Lokasi pembuatan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) dilakukan di Laboratorium Unair C (Lembaga Penyakit Tropis Unair Surabaya)

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur Jalan A.Yani 118, Ketintang, Gayungan, Surabaya.

#### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Penelitian mulai dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai dengan bulan Juni 2018. Sedangkan perlakuan sampel dilakukan pada bulan Juni 2018.

### **3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

#### **3.4.1 Variabel Penelitian**

Variabel Bebas : Larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)

Variabel Terikat : Aktivitas nyamuk *Culex* sp

Variabel Kontrol : Suhu ruang, kelembapan, kandang uji, pelarut ekstraksi dan lama pengamatan

### 3.4.2 Definisi Operasional

A. Pemberian ekstrak daun rambutan (*Dieffenbachia bowmanni*) dalam penelitian ini dikategorikan menjadi skala ordinal, yaitu :

- (1) Pemberian ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) konsentrasi 0%.
- (2) Pemberian ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) dengan konsentrasi 50%.
- (3) Pemberian ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) dengan konsentrasi 100%.
- (4) Pemberian obat nyamuk cair elektrik dengan bahan aktif (transflutrin 12,38g/l).

B. Aktivitas nyamuk *Culex* sp

Dalam penelitian ini Aktivitas nyamuk *Culex* sp berupa angka (dalam skala rasio) yang menunjukkan prosentase nyamuk yang mengalami aktivitas, berdasarkan tanda-tanda :

- 1) Tidak bergerak
- 2) Tidak berjalan atau diam ditempat
- 3) Tidak terbang
- 4) Berjalan lambat
- 5) Terbang tak tentu arah

Data aktivitas nyamuk *Culex* sp dihitung berdasarkan munculnya satu atau lebih dari tanda-tanda diatas. Pengamatan dilakukan setelah nyamuk diinkubasi selama 60 menit sesudah diberi perlakuan.

### 3.5 Teknik Pengumpulan Data

Data aktivitas nyamuk *Culex* sp dikumpulkan dengan cara observasi/pengamatan yaitu dilakukan pada sampel nyamuk *Culex* sp pada pengamatan diinkubasi selama 60 menit.

### 3.6 Prosedur Penelitian

Pada prosedur penelitian yang akan dilakukan melalui tahap-tahap sebagai berikut :

#### 3.6.1 Tahap Persiapan

##### a) Pengeringan dan pembuatan serbuk halus daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)

##### Alat yang digunakan :

Gunting, kain atau lap, ayakan kasa dan kantong plastik

##### Bahan yang digunakan :

Daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)

##### Prosedur Kerja :

- (1) Diambil daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) yang masih segar dengan menggunakan pisau dari sebuah tanaman bahagia di daerah Mantup-Lamongan.
- (2) Dikumpulkan daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) tersebut sebanyak 3 kg.
- (3) Dibersihkan daun dari kotoran residu yang menempel dengan air, lalu lap dengan kain.

- (4) Menimbang berat awal daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)
- (5) Memotong daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) menggunakan gunting menjadi berukuran 4-5 cm<sup>2</sup> dan disebar di atas glassing secara merata.
- (6) Mengeringkan daun bahagia di bawah sinar matahari selama ± 5 hari. Proses pengeringan ditandai dengan daunnya sudah bisa diremah, mudah dipatahkan, warnanya coklat tua dan mudah dihancurkan. Setelah ± 5 hari, daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) ditimbang kembali. Lalu dicatat berat setelah pengeringan, sehingga didapatkan persentase kadar air dari daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) Persentase kadar air daun bahagia dihitung menggunakan rumus menurut Handayani (2016) :

$$\% \text{ Kadar air daun rambutan} = (W1 - W2) / W1 \times 100\%$$

Keterangan :

W1 = Berat daun bahagia sebelum pengeringan (gram)

W2 = berat daun bahagia setelah pengeringan (gram)

$$\% \text{ Kadar air daun rambutan} = (W1 - W2) / W1 \times 100\%$$

$$= \frac{(3000 \text{ gram} - 1400 \text{ gram})}{3000 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 53,33\%$$

- (7) Menghaluskan daun bahagia dengan menggunakan blender sampai halus, kemudian diayak sehingga didapatkan serbuk halus daun bahagia seperti kanji.

**b) Ekstraksi daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) dengan metode maserasi**

**Alat yang digunakan :**

Bejana atau wadah tertutup, batang pengaduk, *vacuum rotary evaporatory*, corong kaca, kertas saring.

**Bahan yang digunakan :**

Serbuk halus daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*), etanol 96%

**Prosedur Kerja :**

- (1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- (2) Mencampurkan serbuk daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) dengan pelarut etanol 96%  $\pm$  5 liter. Perendaman dilakukan selama 3 hari secara bertahap.
- (3) Hari pertama merendam serbuk simplisia dengan 2400 ml etanol 96% selama 1x24 jam sesekali diaduk. Setelah 1x24 jam sampel yang diperoleh dalam bentuk filtrat dan supernatan. Memisahkan supernatan dan filtrat menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring dan menyimpan hasil supernatan.
- (4) Hari kedua melakukan perendaman filtrat kembali dengan 1300 ml etanol 96% selama 1x24 jam dan sesekali diaduk. Lalu memisahkan filtrat dan supernatan menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring dan menyimpan hasil supernatan.
- (5) Hari ketiga melakukan perendaman filtrat kembali dengan 1300 ml etanol 96% selama 1x24 jam dan sesekali diaduk. Lalu memisahkan filtrat dan supernatan menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring.

(6) Menyatukan hasil supernatan pertama dan supernatan kedua, dan ketiga kemudian menyaring kembali dengan corong kaca yang dilapisi kertas saring agar filtrat benar-benar terpisah.

(7) Menguapkan supernatan hasil maserasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 50°C.

**c) Pembuatan konsentrasi larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)**

**Alat yang digunakan :**

Pipet pasteur, pipet ukur, filler, gelas kimia, gelas ukur

**Bahan yang digunakan :**

Ekstrak kental daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*), aquadest

**Prosedur Kerja :**

(1) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan.

(2) Konsentrasi larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) 0%. Memipet 30 ml aquadest tanpa diberi ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*).

(3) Konsentrasi larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) 50%. Memipet 15 ml ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) , lalu menambahkan aquadest sebanyak 15 ml, kemudian mengocoknya hingga homogen.

(4) Konsentrasi larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) 100%. Memipet 30 ml ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) tanpa pemberian aquadest.

**d) Persiapan hewan uji**

**Alat yang digunakan :**

Kandang terbuat dari kaca dengan ukuran 50x50 cm

**Bahan yang digunakan :**

Nyamuk *Culex* sp

**Prosedur kerja :**

- (1) Membeli nyamuk *Culex* sp di Dinas Kesehatan Jawa Timur sebanyak 240 ekor nyamuk dengan umur 4-5 hari.
- (2) Nyamuk *Culex* sp kemudian ditempatkan dikandang terbuat dari kaca berukuran 50x50 cm.

**3.6.2 Tahap Perlakuan**

**a) Perlakuan nyamuk *Culex* sp dengan pemberian ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*)**

**Alat yang digunakan :**

Kertas label, stopwatch, hygrometer, alat hit elektrik cair, kabel olor, senter, aspirator, kandang nyamuk yang terbuat dari kaca dengan ukuran 50x50 cm, pinset, alat tulis dan lembar observasi.

**Bahan yang digunakan :**

Ekstrak Daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) konsentrasi 0%, 50%, 100%, hit nyamuk elektrik cair (transflutrin 12,38g/l), sampel nyamuk *Culex* sp.

**Prosedur Kerja :**

- (1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

(2) Meletakkan masing-masing hit elektrik cair kedalam kandang perlakuan, dengan masing-masing konsentrasi yaitu 0%, 50%,100% dan hit elektrik cair (transflutrin 12,38g/l).

(3) Memasukkan nyamuk *Culex* sp masing-masing berisi 10 ekor nyamuk *Culex* sp dengan menggunakan aspirator kedalam kandang perlakuan dengan periode pengacakan sebagai berikut :

Hari/tanggal : 4 juni 2018

Periode 1 : pukul 09.00 – 10.00

Periode 2 : pukul 10.10 – 11.10

Periode 3 : pukul 11.10 – 12.10

Hari/tanggal : 5 juni 2018

Periode 1 : pukul 09.30 – 10.30

Periode 2 : pukul 10.40 – 11.40

Periode 3 : pukul 11.40 – 12.40

**Tabel 3.2 Desain sampling acak kelompok**

| NO<br>REPLIKASI | PERLAKUAN |      |      |      |
|-----------------|-----------|------|------|------|
|                 | X0        | X1   | X2   | X3   |
| 1               | X0.2      | X1.4 | X2.1 | X3.3 |
| 2               | X0.1      | X1.3 | X2.2 | X3.4 |
| 3               | X0.4      | X1.1 | X2.3 | X3.2 |
| 4               | X0.3      | X1.2 | X2.1 | X3.4 |
| 5               | X0.1      | X1.4 | X2.3 | X3.2 |
| 6               | X0.4      | X1.2 | X2.1 | X3.3 |

(4) Mengukur temperatur dan kelembapan udara pada ruangan kemudian dicatat.

- (5) Menyalakan hit elektrik cair yang sudah diletakkan pada kandang perlakuan dan menyalakan stopwatch.
- (6) Kemudian mengamati aktivitas tidak normal nyamuk *Culex* sp menggunakan senter selama 60 menit pemaparan.
- (7) Setelah 60 menit pemaparan nyamuk mengalami aktivitas tidak normal dipindahkan ke dalam paper cup dengan menggunakan pinset dan aspirator untuk nyamuk yang masih beraktivitas normal.

**Tabel 3.3 Contoh tabulasi hasil pengamatan jumlah nyamuk *Culex* sp yang mengalami aktivitas tidak normal**

| Pengulangan      | Jumlah nyamuk <i>Culex</i> sp yang mengalami aktivitas tidak normal |          |           |         |
|------------------|---------------------------------------------------------------------|----------|-----------|---------|
|                  | Setelah diberi perlakuan 1 jam                                      |          |           |         |
|                  | X0 (0%)                                                             | X1 (50%) | X2 (100%) | X3 (K+) |
| 1                |                                                                     |          |           |         |
| 2                |                                                                     |          |           |         |
| 3                |                                                                     |          |           |         |
| 4                |                                                                     |          |           |         |
| 5                |                                                                     |          |           |         |
| 6                |                                                                     |          |           |         |
| <b>Total</b>     |                                                                     |          |           |         |
| <b>Rata-rata</b> |                                                                     |          |           |         |
| <b>SD</b>        |                                                                     |          |           |         |

### 3.7 Metode Analisis Data

Data tingkat aktivitas nyamuk *Culex* sp dianalisis dengan uji OneWay ANOVA untuk membandingkan tingkat aktivitas nyamuk *Culex* sp dengan larutan ekstrak daun bahagia (*Dieffenbachia bowmanni*) pada konsentrasi 0%, 50% dan 100%. Pada tingkat kesalahan 5% ( $\alpha=0,05$ ).