

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan perlakuan pemberian ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah Desain Acak Lengkap (DAL) yang terdiri dari 4 level perlakuan dan 6 pengulangan. Berikut ini adalah desain eksperimen penelitiannya.

	Kelompok	Perlakuan	Postes
(R)	Eksperimen	P1	O ₁
(R)	Eksperimen	P2	O ₂
(R)	Eksperimen	P3	O ₃
(R)	Kontrol	P4	O ₄

Gambar 3.1 Desain Penelitian

Sumber : (Zaenal Arifin, 2008)

Keterangan :

R : Replikasi

P1 : Perlakuan larva *Aedes aegypti* menggunakan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 500 ppm.

P2 : Perlakuan larva *Aedes aegypti* menggunakan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 1000 ppm.

P3 : Perlakuan larva *Aedes aegypti* menggunakan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 1500 ppm.

P4 : Perlakuan larva *Aedes aegypti* tanpa menggunakan perlakuan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 0 ppm.

- OP1 : Observasi perlakuan pada kematian larva *Aedes aegypti* setelah diberikan perlakuan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 500 ppm.
- OP2 : Observasi perlakuan pada kematian larva *Aedes aegypti* setelah diberikan perlakuan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 1000 ppm.
- OP3 : Observasi perlakuan pada kematian larva *Aedes aegypti* setelah diberikan perlakuan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 1500 ppm.
- OP4 : Observasi perlakuan pada kematian larva *Aedes aegypti* setelah diberikan perlakuan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*) dengan konsentrasi 0 ppm.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Universitas Airlangga Surabaya untuk poses ekstraksi dari rimpang temu kunci. Sedangkan untuk pengambilan sampel larva *Aedes aegypti* di Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan bulan Julitahun 2017.

3.3 Populasi dan Sampel penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian ini yang dilakukan dengan masing-masing countainer berisi 20 larva. Menurut (Hanafiah, 2010) Adapun untuk pengulangan dalam penelitian ini dengan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned}(r-1)(k-1) &\geq 15 \\(r-1)(4-1) &\geq 15 \\(r-1)(3) &\geq 15 \\3r - 3 &\geq 15 \\3r &\geq 15+3 \\3r &\geq 18 \\r &\geq 18/3 \\r &\geq 6\end{aligned}$$

Keterangan:

K : Perlakuan

r : Pengulangan

Berdasarkan rumus tersebut maka penelitian ini dengan 4 perlakuan dan masing-masing pengulangan sebanyak 6 kali dan masing-masing countainer diisi 20 larva. Sehingga total 480 larva.

3.4 Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Variabel bebas dalam penelitian adalah konsentrasi ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*)
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kematian dari larva *Aedes aegypti*
- c. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah instar dan jumlah larva *Aedes aegypti* pada tiap unit perlakuan, volume media, gelas plastik dan konsentrasi larutan stok.

3.4.2 Definisi operasional variabel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Ekstrak Temu Kunci.

Larutan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia Pandurata Roxb*) adalah hasil ekstraksi yaitu zat saponin dan flavonoid dari tanaman temu kunci. Saponin dan flavonoid selanjutnya dihomogenkan dengan aquades sampai 100 ml. Maka ini yang dimaksud dengan larutan stok. Dari larutan stok dijadikan larutan uji dengan skala rasio konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm dan 1500 ppm fungsinya yaitu untuk membandingkan setiap konsentrasi ekstrak temu kunci pada perlakuan larva *Aedes aegypti*.

2. Biolarvasida

Biolarvasida yang dimaksud dalam penelitian ini adalah biolarvasida yang bahan dasarnya dari tumbuhan yang diperlukan untuk membunuh larva *Aedes aegypti*. Biolarvasida dalam penelitian ini dibuat dari temu kunci.

3. Kematian larva *Aedes aegypti*.

Kematian larva *Aedes aegypti* yang dimaksud dalam penelitian ini adalah banyaknya tingkat kematian larva *Aedes aegypti* setelah pemberian ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata roxb*). Larva *Aedes aegypti* dikatakan mati apabila larva disentuh larva tidak bergerak, larva *Aedes aegypti* mengambang pada permukaan air. Pengamatan ini dilakukan selama 24 jam dalam 1 hari.

4. Bahan Ajar Parasitologi

Bahan ajar parasitologi bagi peserta didik adalah bahan ajar yang dapat memberikan pengetahuan tentang siklus hidup, taksonomi serta beberapa aspek epidemiologi penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) (Inge sutanto, 2008).

3.5 Prosedur Pengumpulan Data

3.5.1 Tahap persiapan

1. Sterilisasi alat.

Peralatan yang digunakan seperti :

- a. Gelas ukur
- b. Pipet tetes
- c. Beaker glass

- d. Senter
- e. Labu ukur
- f. Gelas plastik
- g. Pipet Volume
- h. Alat tulis
- i. Spatula/ *Stirrer*
- j. Botol kecil
- k. Toples
- l. Neraca

2. Penetasan telur *Aedes aegypti*.

- a. Telur *Aedes aegypti* diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- b. Telur diletakkan dalam nampan plastik yang diisi air kemudian ditunggu hingga telur menetas.
- c. Setelah menetas, larva diberi makan pelet ikan yang diletakkan pada sisi nampan.
- d. Larva dipelihara dalam nampan hingga berusia antara 3-4 hari hingga menjadi larva instar III. Larva inilah yang digunakan untuk perlakuan. Karena larva instar III memiliki ketahanan serta fisiologi tubuh yang siap terhadap cekaman lingkungan.

3. Pembuatan ekstrak temu kunci

- a. Rimpang temu kunci yang dibeli di pasar terkumpul 4 kg.
- b. Rimpang temu kunci dicuci dengan air hingga bersih kemudian dikering anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung.
- c. Rimpang temu kunci yang sudah dikeringkan lalu kemudian dipotong kecil-kecil.
- d. Potongan kecil rimpang temu kunci dimasukkan ke dalam toples untuk dimaserasi menggunakan etanol.
- e. Hasil maserasi disaring hingga diperoleh filtrat.
- f. Filtrat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* (pemisahan zat).
- g. Zat yang diambil dalam temu kunci berupa saponin dan flavonoid
- h. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak dari rimpang temu kunci.

4. Pembuatan larutan stok dan larutan uji.

a. Larutan stok

Cara membuat konsentrasi larutan stok.

- 0 ppm : air aquadest 100 ml tanpa campuran larutan stok.
- 500 ppm : 16,67 ml larutan stok di ad kan dengan aquadest sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm.
- 1000 ppm : 33,3 ml larutan stok di ad kan dengan aquadest sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.
- 1500 ppm : 50 ml larutan stok di ad kandengan aquadest sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 1500 ppm.

3.5.2 Tahap Perlakuan

- a. Menyiapkan gelas plastik kosong sebanyak 24 buah sebagai wadah gelas uji.
- b. Menyiapkan larutan stok ekstrak temu kunci.
- c. Menyiapkan air aquadest
- d. Ad kan larutan stok dengan air aquadest sampai 100 ml dengan menggunakan labu ukur
- e. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* sebanyak 480 ekor dalam wadah tersendiri,
- f. Kemudian masukkan larva *Aedes aegypti* instar III tersebut ke dalam 24 wadah gelas uji tersebut masing-masing sebanyak 20 ekor.
- g. Beri label seperti A,B,C,D. Pada label huruf A sebagai kontrol tanpa diberi perlakuan ekstrak temu kunci, sedangkan label huruf B, C, dan D dengan memberikan perlakuan ekstrak temu kunci. Guna untuk mempermudah mengamati perkembangan pada kematian larva *Aedes aegypti*
- h. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur pada larva uji, kemudian di amati pergerakannya.
- i. Pengamatan dilakukan dalam 1 hari selama 24 jam.

3.5.3 Teknik pengumpulan data penelitian

1. Persiapan media ekstrak temu kunci

- a. Alat : Blender, timbangan
- b. Bahan : Temu kunci
- c. Prosedur : Cuci rimpang kunci tersebut hingga bersih tujuannya adalah untuk menghilangkan tanah yang ada pada rimpang kunci tersebut, lalu jemur ditempat yang panas selama 2 jam, kemudian potong kecil-kecil rimpang kunci tersebut setelah itu blender hingga halus tanpa menggunakan air.

2. Pembuatan ekstrak temu kunci

- a. Alat : Beaker Glass, Rotary vacum evaporator
- b. Bahan : Temu kunci, etanol 96%
- c. Prosedur : Hasil temu kunci yang sudah di blender kemudian dilakukan proses maserasi menggunakan ethanol 96 % ± selama 5 hari. Kemudian proses evaporasi menggunakan alat rotary vacum evaporator selama 7-10 jam.

3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Temu Kunci.

- a. Alat : Corong, , gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, beaker glass, *stirrer*, botol kecil, Neraca
- b. Bahan : Ekstrak temu kunci.
- c. Prosedur : Ektrak temu kunci dimasukkan ke labu ukur, ditimbang dari *gram* ke ml menggunakan neraca, larutkan dengan aquadest kemudian aduk dengan menggunakan *stirrer* sampai homogen sehingga memperoleh konsentrasi 500 ppm (16,67 ml), 1000 ppm (33,3 ml) dan 1500 ppm (50 ml). Masukkan ke dalam botol kecil

4. Penempatan Larva *Aedes aegypti*

- a. Alat : Pipet larva, gelas ukur, beaker glass, gelas plastik, sendok pengaduk, botol kecil, kertas label
- b. Bahan : Ekstrak temu kunci, larva *Aedes aegypti*.
- c. Prosedur : sebelum proses pengenceran konsentrasi ekstrak temu kunci, dilakukan pengacakan tata letak konsentrasi ekstrak temu kunci

dengan cara mengundi yang akan diberi perlakuan pada larva. Hal ini bertujuan untuk memberikan hasil penelitian yang objektif. Sehingga menghasilkan tata letak penempatan konsentrasi ekstrak temu kunci sebagai berikut :

C5	A6	D5	A2
C1	A4	C6	B3
B4	B6	B1	C2
A5	B5	D	C3
D3	C4	D1	B3
D6	D2	A3	A1

Gambar 3.2Tata letak Rancangan Acak Lengkap (RAL) Konsentrasi Ekstrak Temu kunci

Keterangan :

A1-A6 : Konsentrasi 0 ppm dengan air aquadest (kontrol)

B1-B6 : Konsentrasi 500 ppm dengan ekstrak temu kunci

C1-C6 : Konsentrasi 1000 ppm dengan ekstrak temu kunci

D1-D5 : Konsentrasi 1500 ppm dengan ekstrak temu kunci

Botol kecil yang sudah terisi oleh konsentrasi ekstrak temu kunci kemudian di encerkan hingga 100 ml, masukkan ekstrak tersebut ke dalam gelas plastik beserta larva *Aedes aegypti*. Amati kematian larva selama 1x 24 jam.

5. Pengamatan.

a. Alat : Alat tulis, kamera, lidi dan senter

b. Prosedur : Kematian Larva *Aedes aegypti* yang akan diamati dalam penelitian ini adalah ketika larva disentuh oleh ujung lidi kriterianya larva tersebut tidak bergerak, larva mengambang pada permukaan air.

3.6 Instrumen rancangan data

Terdapat 4 konsentrasi ekstrak temu kunci dengan 6 pengulangan sehingga terdapat 24 unit perlakuan (Tabel 3.2). Setiap unit perlakuan diisi 20 larva *Aedes aegypti* instar III

Tabel 3.2. Rancangan Penelitian Efektifitas Ekstrak Temu Kunci terhadap Kematian Larva *Aedes Aegypti*

Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Temu Kunci (Perlakuan)			
	A (0 ppm)	B (500 ppm)	C (1000ppm)	D (1500ppm)
1	A1	B1	C1	D1
2	A2	B2	C2	D2
3	A3	B3	C3	D3
4	A4	B4	C4	D4
5	A5	B5	C5	D5
6	A6	B6	C6	D6

3.6.1 Jadwal Pengamatan Data

Jadwal pengamatan data dalam penelitian ini dilakukan selama 1 hari 24 jam untuk mengetahui kematian pada larva *Aedes aegypti*.

3.6.2 Tabulasi Data

Teknik tabulasi data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan cara melihat kematian dari larva *Aedes aegypti* setelah diberi perlakuan ekstrak temu kunci dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm. Selanjutnya data yang telah terkumpul ditabulasi dalam tabel berikut ini :

Tabel 3.3 Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* Pada 24 jam Setelah Perlakuan.

Konsentrasi Ekstrak Temu kunci (%)	Pengulangan (r)	24 Jam Pengamatan Setelah Perlakuan		Persentase (%)	Total Persentase (%)
		Kematian (%)	Rerata (%)		
0	A1				

	A2				
	A3				
	A4				
	A5				
	A6				
500 ppm	B1				
	B2				
	B3				
	B4				
	B5				
	B6				
1000 ppm	C1				
	C2				
	C3				
	C4				
	C5				
	C6				
1500 ppm	D1				
	D2				
	D3				
	D4				
	D5				
	D6				

3.7 Teknik Analisis Data

Untuk mengetahui apakah efektivitas ekstrak temu kunci terhadap larva *Aedes aegypti* . maka data terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas. Jika data distribusi normal dan homogen, maka akan diuji dengan menggunakan analisa varian (anova) satu jalur dengan ($\alpha= 0,05$) karena analisis ini digunakan untuk menguji data interval dan rasio. Sedangkan apabila tidak data tidak normal maka akan diuji menggunakan uji statistic Kruskal wallis.