

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan rancangan *true eksperiment* dengan desain *post test control only group* karena tidak dilakukannya pretest terhadap sampel sebelum perlakuan. Terdapat kelompok eksperimen (intervensi ekstrak daun *Cymbopogon citratus*) dan kelompok kontrol (kontrol positif dengan intervensi abate dan kontrol negatif tanpa intervensi abate). Sampel penelitian baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dipilih secara acak.

B. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah larva *Aedes sp.*, sedangkan sampelnya adalah 25 larva nyamuk *Aedes sp.* instar III yang di dapatkan di daerah Kasihan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta.

1. Kriteria inklusi : larva *Aedes sp.* instar III umur 4-5 hari yang bercirikan ukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas, corong pernafasan berwarna coklat kehitaman.
2. Kriteria eksklusi : Larva yang mati, tidak dapat bergerak ketika diberi rangsang cahaya senter atau hentakan jari dan ukuran tubuh yang berbeda jelas.

Terdapat 8 kelompok perlakuan (dengan konsentrasi 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,05%) ekstrak daun serai (*Cymbopogon citratus*) dan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol positif (Abate 1%) dan kontrol negatif (aquades) .

Untuk menghitung estimasi besar sampel digunakan rumus Frederer sebagai berikut

:

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

Keterangan :

n = banyak replikasi

t = jumlah kelompok

Dengan menggunakan rumus Frederer maka estimasi besar sampel yang akan dicobakan adalah :

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

$$(n - 1) (8 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) 7 \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 15 + 7$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah minimal tiga replikasi. Jadi, jumlah larva *Aedes sp.* yang diperlukan adalah sebanyak 600 larva.

C. Variabel dan Definisi Operasional

C.1. Variabel

1. Variabel bebas : kadar ekstrak daun serai pada berbagai konsentrasi
2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,05% (skala rasio)
2. Variabel terikat : jumlah kematian larva *Aedes sp.* (skala rasio)
3. Variabel pengganggu terkendali :
 - a. Umur larva
 - b. Kualitas air
 - c. Tempat hidup
 - d. Volume air
4. Variabel pengganggu tidak terkendali :
 1. Kesehatan larva
 2. Kelembaban
 3. Suhu

C.2. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun serai

Pada penelitian ini, daun serai yang digunakan sebagai ekstrak diperoleh dari kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta yang kemudian dihaluskan dan diekstraksi dengan menggunakan cairan penyari etanol 95 % di lab Farmasetika UMY. Konsentrasi ekstrak daun serai yang digunakan dalam uji pendahuluan adalah 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,05%. Konsentrasi tersebut dibuat dengan cara mengencerkan ekstrak yang telah dibuat (100%) menggunakan aquades untuk mendapatkan konsentrasi yang dibutuhkan dengan menggunakan rumus $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$.

2. Larva *Aedes sp.* instar III

Larva *Aedes sp.* instar III adalah larva yang berumur 4-5 hari, ukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas, corong pernafasan berwarna coklat kehitaman.

3. Jumlah kematian larva *Aedes sp.*

Jumlah kematian larva *Aedes sp.* adalah banyaknya larva *Aedes sp.* instar III yang mati setelah pemberian perlakuan. Larva dianggap mati bila tidak ada tanda-tanda kehidupan, misalnya tidak bergerak lagi walaupun dirangsang dengan gerakan air dan disentuh dengan lidi. Kematian larva ditulis dengan skala ratio.

4. Lethal Concentration LC_{50} dan LC_{90}

Lethal Concentration LC_{50} dan LC_{90} adalah konsentrasi (%) ekstrak daun serai (*Cymbopogon citratus*) yang dapat membunuh 50% dan 90% populasi larva *Aedes aegypti*.

5. Lethal Time LT_{50} dan LT_{90}

Lethal Time LT_{50} dan LT_{90} adalah waktu yang dibutuhkan (jam) ekstrak daun serai (*Cymbopogon citratus*) untuk membunuh 50% dan 90% populasi larva *Aedes aegypti*.

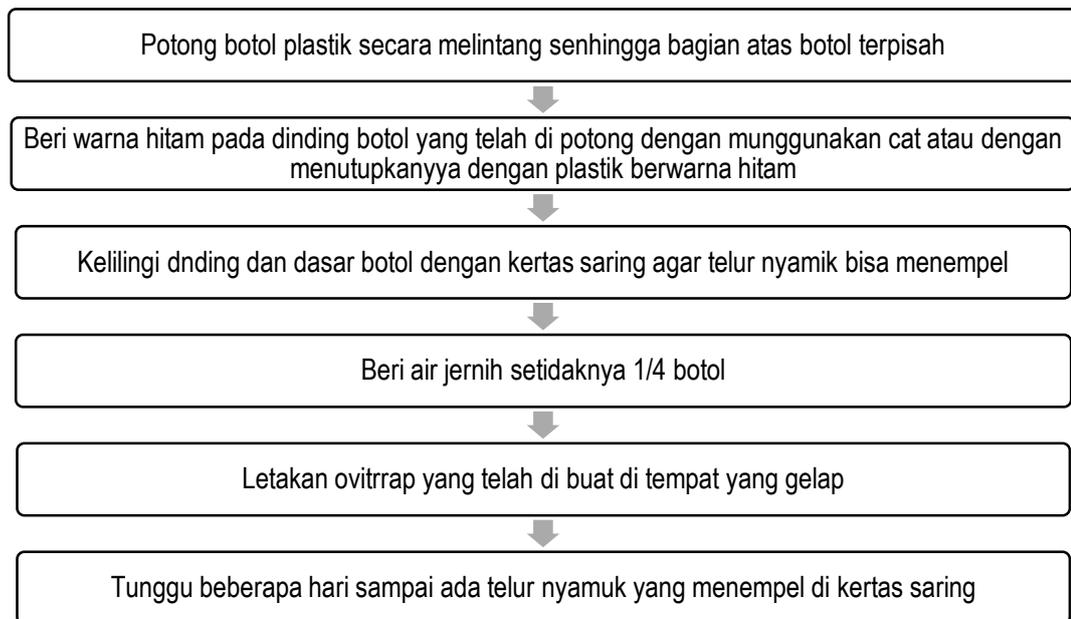
D. Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah larva *Aedes sp. instar III*, ethanol 95%, ekstrak ethanol daun serai (*Cymbopogon citratus*) dengan berbagai konsentrasi 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,05% dan Akuades. Sedangkan alatnya adalah ovitrap, neraca analitik, pipet ukur, pipet untuk mengambil larva, jaring, gelas ukur 1000cc, 7 cawan petri, beker glass, kain (sebagai pelindung agar nyamuk yang menjadi dewasa tidak terbang keluar).

E. Cara Kerja

1. Pengumpulan Larva

Larva *Aedes sp.* dikumpulkan dengan alat bernama ovitrap yang dibuat dengan cara:



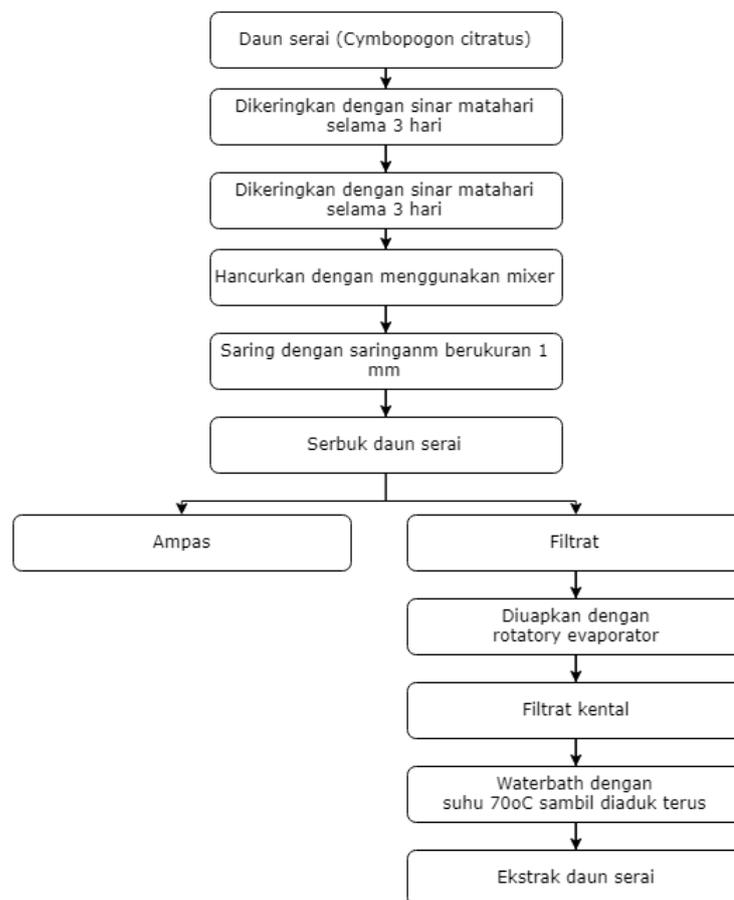
Kemudian letakkan ovitrap di tempat-tempat yang habitat bagi nyamuk *Aedes aegypti*, seperti tempat yang lembab, sedikit cahaya matahari atau memiliki intensitas cahaya yang rendah. Tunggu selama 1-2 minggu, awasi agar tidak tumpah.

2. Pembuatan Larutan uji

a. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak *Cymbopogon citratus* yang dibuat di laboratorium farmasetika UMY dengan menggunakan pelarut ethanol 95%. Daun serai diambil kemudian dijemur selama 7 hari sampai benar-benar kering (menggunakan microwave bila cuaca tidak mendukung). Kemudian, hancurkan daun serai yang sudah kering dengan menggunakan mixer sampai ukuran partikel menjadi kecil. Setelah itu, lakukan proses perendaman (maserasi) daun

serai yang sudah kering dan hancur dengan pelarut ethanol dengan perbandingan zat terlarut dan pelarutnya sebesar 1:10. Tunggu proses maserasi selama 3 hari dan aduk sesering mungkin. Lalu, lakukan penyaringan campuran sehingga terpisah antara cairan dan ampasnya. Kemudian, lakukan proses pengupuan ethanol dengan menggunakan alat rotatory evaporator dan waterbathing sampai menjadi ekstrak kental. Skematis pembuatannya dapat dilihat di bagan berikut :



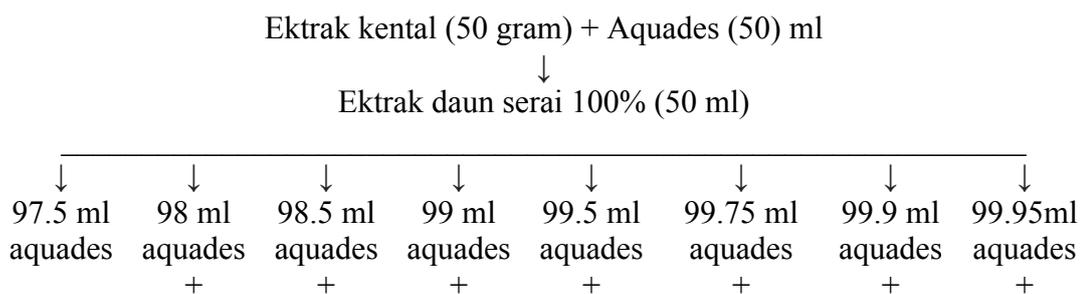
Penentuan Konsentrasi

Setelah didapat ekstrak kental, buatlah larutan ekstrak daun serai 100% dengan cara mencampurkan ekstrak kental dengan aquades panas sebanding dengan masa ekstrak kental (50 gram ekstrak kental dicampur

50 ml aquades). Konsentrasi ekstrak ethanol *Cymbopogon citratus* yang dibuthkan adalah:

- 1) Konsentrasi 2,5% dibuat dengan 97.5 ml aquades + 2,5 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 2) Konsentrasi 2% dibuat dengan 98 ml aquades + 2 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 3) Konsentrasi 1,5% dibuat dengan 98,5 ml aquades + 1,5 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 4) Konsentrasi 1% dibuat dengan 99 ml aquades + 1 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 5) Konsentrasi 0,5% dibuat dengan 99,5 ml aquades + 0,5 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 6) Konsentrasi 0,25% dibuat dengan 99,75 ml aquades + 0,25 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 7) Konsentrasi 0,1% dibuat dengan 99,9 ml aquades + 0,1 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%
- 8) Konsentrasi 0,05% dibuat dengan 99,95 ml aquades + 0,05 ml larutan ekstrak cymbopogan citratus 100%

Bagan lengkap dapat dilihat sebagai berikut:



+

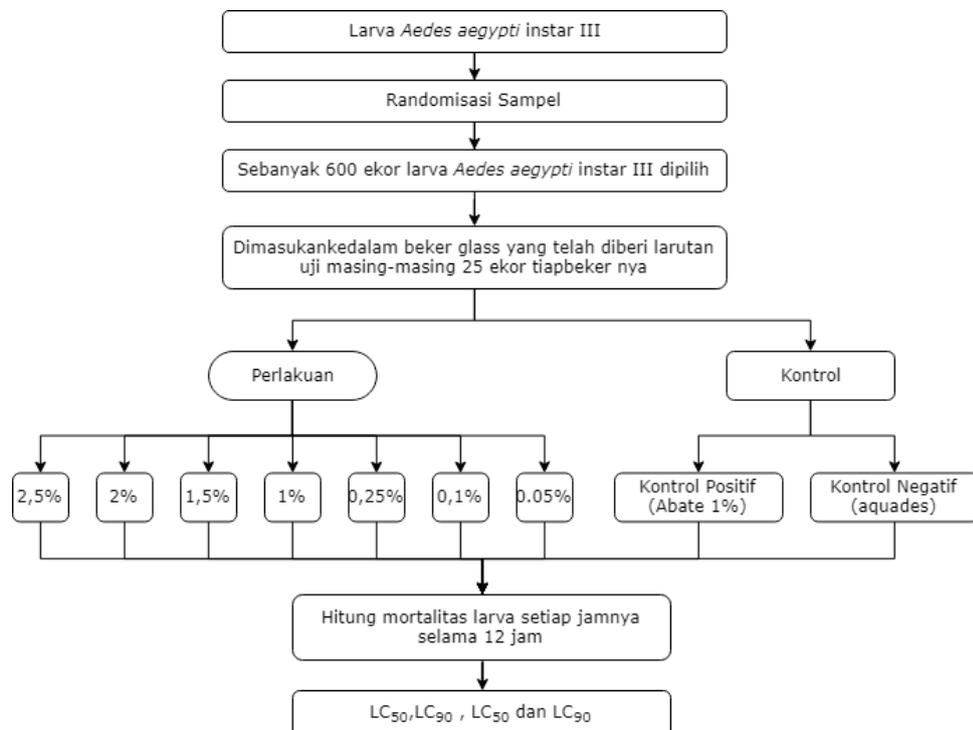
| | | | | | | | |
|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 2,5 ml larutan ekstrak | 2 ml larutan ekstrak | 1,5 ml larutan ekstrak | 1 ml larutan ekstrak | 0,5 ml larutan ekstrak | 0,25 ml larutan ekstrak | 0,1 ml larutan ekstrak | 0,05 ml larutan ekstrak |
| ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| 2,5% | 2% | 1,5% | 1% | 0.5% | 0.25% | 0.1% | 0.05% |

3. Persiapan kontrol

- a. Kontrol positif dengan melarutkan abate 1% pada 100 ml aquades
- b. Kontrol negatif dengan hanya pemberian aquades 100 ml

4. Pelaksanaan uji larvisida

Masukan masing-masing larutan dengan volume 100 ml yang telah dibuat sebelumnya kedalam gelas beaker yang kemudian diberi label 1-7 untuk mewakili konsentrasi 2,5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,05% secara berurutan dan +- untuk mewakili kontrol positif dan kontrol negative secara berurutan. Kemudian masukan masing-masing 25 ekor larva *Aedes sp.* pada setiap cawan petri. Kematian larva ditentukan dengan banyaknya larva yang mati pada setiap jam dan lamanya pengamatan dilakukan selama 12 jam. Alur lengkapnya dapat dilihat di bagan berikut:



F. Analisis Data

Setelah semua data yang didapatkan dari jumlah larva *Aedes sp.* instar III yang mati, selanjutnya dilakukan pengolahan dan analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS 17.0. Terdapat beberapa uji statistik yang dilakukan, yaitu

1. Uji normalitas (Kolmogorov–Smirnov/Shapiro-Wilk)

Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk digunakan untuk mengetahui normalitas distribusi data dan penting untuk menentukan uji statistik yang akan dilakukan kemudian.

2. Uji varians (*Levene's test*)

Levene's test digunakan untuk menguji kesamaan varians.

3. Uji Kurskal Wallis

Jika sebaran data tidak normal dan atau varians data tidak sama maka digunakan uji alternatif yaitu uji Kurskal Wallis.

4. Uji Mann-Whitney

Dilakukan setelah Uji Kurskal Wallis untuk mengetahui hubungan tiap-tiap kelompok uji.

5. Uji Korelasi (Pearson/Spearman)

Dilakukan untuk menguji hubungan antara dua variabel.

6. Analisis Probit

Analisis probit digunakan untuk menilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*), LT_{50} (*Lethal Time 50*), LC_{90} (*Lethal Concentration 90*) dan LT_{90} (*Lethal Time 90*).