

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*, mengenai daya larvasida ekstrak kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) terhadap larva nyamuk *Culex sp.* Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan random sampling terhadap larva *Culex sp.*

#### B. Populasi dan Sampel Penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah larva nyamuk *Culex sp* instar III yang diperoleh dari hasil kolonisasi di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Pengambilan sampel (larva) dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

## 1. Kriteria Inklusi

- a. Digunakan larva *Culex sp* instar III (tidak cepat berubah menjadi pupa, mempunyai ketahanan hidup yang lebih tinggi, serta mudah diidentifikasi secara makroskopis dibanding instar I dan II karena ukuran larva instar III sudah cukup panjang)
- b. Umur larva 3-5 hari setelah menetas
- c. Jenis kelamin larva betina dan jantan
- d. Larva dalam kondisi baik (sehat dan aktif)

## 2. Kriteria Eksklusi

- a. Larva *Culex sp* yang belum mencapai instar III
- b. Larva yang telah berubah menjadi pupa atau nyamuk dewasa
- c. Larva pasif
- d. Larva terlihat tidak sehat

Terdapat 7 sampel ekstrak kulit buah manggis (konsentrasi 2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%) dan 2 kelompok kontrol (pada kontrol positif dan kontrol negatif). Kontrol positif menggunakan bubuk Abate yang mengandung *organophosphor (temophos)* dengan takaran 1 gram Abate untuk 10L air sedangkan kontrol negatif adalah aquades. Setiap kelompok dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Jumlah replikasi ini ditentukan berdasarkan perhitungan:

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

Ket: t = perlakuan

r = replikasi

15 = faktor nilai derajat kebebasan

Dalam setiap kelompok terdiri dari 25 larva nyamuk *Culex sp* (Ndione dkk, 2007). Larva *Culex sp* dimasukkan ke dalam mangkok berisi ekstrak kulit buah manggis berbagai konsentrasi dan 2 kelompok kontrol, yang masing-masing dengan total 100 ml (Andriani, 2008).

### C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dalam waktu kurang lebih satu bulan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

### D. Variabel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan variable-variabel sebagai berikut:

1. Variabel bebas adalah ekstrak kulit buah manggis dalam berbagai konsentrasi (2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%)
2. Variabel tergantung adalah prosentase kumulatif kematian larva nyamuk *Culex sp*.

3. Variabel pengganggu terkendali adalah umur tingkatan larva (instar)
4. Variabel pengganggu tak terkendali adalah variasi biologis dan variasi individual larva.

#### E. Definisi Operasional

1. Ekstrak kulit buah manggis adalah bahan kental yang dihasilkan dari proses ekstraksi kulit buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*). Konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%. Konsentrasi tersebut didapat dari ekstrak yang telah dibuat (100%) diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi yang dibutuhkan. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus:  $V_1.M_1=V_2.M_2$
2. Stadium larva adalah larva nyamuk *Culex sp* instar III yang memiliki usia antara 3-5 hari. Ciri-ciri larva instar III adalah larva yang telah mengalami pergantian kulit (ekdisi) sebanyak dua kali, berumur 3-5 hari setelah menetas, spina pada sisi *thorax* sudah terlihat jelas, dan panjang  $\pm$  3mm (Cook dan Zumla, 2003).
3. Daya larvasida ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L.*) adalah daya membunuh atau meracuni ekstrak kulit buah manggis terhadap larva nyamuk *Culex sp* yang ditentukan dalam LC (*Lethal Concentration*)  $_{50}$  , LC $_{90}$  dan LC $_{95}$  .

4. LC (*Lethal Concentration*)<sub>50</sub> adalah kemampuan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L.*) untuk membunuh populasi dalam sampel sebanyak 50% dalam konsentrasi tertentu.
5. LC (*Lethal Concentration*)<sub>90</sub> adalah kemampuan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L.*) untuk membunuh populasi dalam sampel sebanyak 90% dalam konsentrasi tertentu.
6. LC (*Lethal Concentration*)<sub>95</sub> adalah kemampuan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L.*) untuk membunuh populasi dalam sampel sebanyak 95% dalam konsentrasi tertentu.

#### **F. Alat dan Bahan Penelitian**

1. Mangkok penyajian larva
2. Tabung reaksi, rak tabung, dan tutup tabung
3. Gelas ukur
4. Pipet ukur dan pipet untuk mengambil larva
5. Lensa pembesar
6. Senter
7. Saringan
8. Blander atau juicer
9. Batang pengaduk kaca
10. Ekstraktor (Peralatan Maserasi)

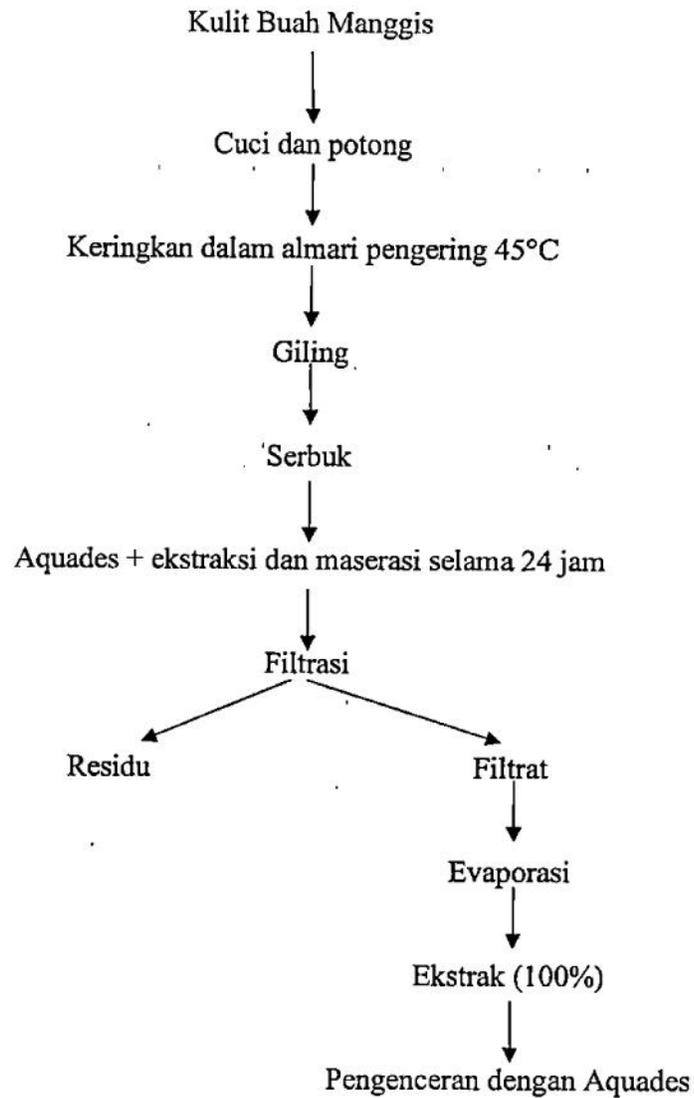
11. Evaporasi
12. Pisau
13. Alat tulis
14. Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) yang akan dibuat ekstrak dalam berbagai konsentrasi (2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%)
15. Larva *Culex sp* instar III
16. Makanan ikan sebagai makanan larva
17. Akuades
18. Etanol
19. Bubuk Abate

## **G. Jalannya Penelitian**

### **1. Persiapan Alat dan Bahan**

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini dipersiapkan dan dicuci bersih terlebih dahulu. Pembuatan ekstrak kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dilaksanakan dengan cara maserasi dengan etanol dengan skema sebagai berikut:

(Rahayu, 2007)



Konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%. Konsentrasi tersebut didapat dari ekstrak yang telah dibuat (100%) diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan

konsentrasi yang dibutuhkan. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus:  $V_1.M_1=V_2.M_2$

## 2. Uji Larvasida

Disiapkan sebanyak 9 tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 25 ekor larva *Culex sp* instar III yang akan diisikan kedalam 7 mangkok sampel dan 2 mangkok kontrol. Siapkan 7 mangkok yang akan digunakan sebagai tempat sampel masing-masing berisi 100 larutan ekstrak kulit buah manggis + 25 ekor larva (masing-masing satu seri konsentrasi dari 2,5% , 2%, 1,5%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%). Dua mangkok yang lain adalah sebagai kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif berisi 100 ml aquades + 25 ekor larva. Kontrol positif 100 ml air + bubuk Abate + 25 ekor larva. Larva diberi makan selama penelitian. Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer yang didapat dari jumlah larva yang mati setiap 12 jam pada setiap konsentrasi ekstrak Kulit Buah Manggis dengan replikasi sebanyak 3 kali.

## H. Analisis Data

Daya bunuh ekstrak kulit buah manggis diukur dengan menghitung  $LC_{50}$ ,  $LC_{90}$ , dan  $LC_{95}$  dengan analisa probit. Uji hipotesis untuk mendapatkan signifikansi perbedaan antar kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan ekstrak kulit buah manggis dengan berbagai konsentrasi digunakan uji *One Way Anova*. Analisis secara statistik dilakukan dengan menggunakan program dari *SPSS*.