

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental murni di laboratorium dengan memberikan suatu intervensi pada sampel yang diuji. *Post-test only control group design* digunakan dalam penelitian ini karena peneliti melakukan pengamatan atau pengukuran setelah penelitian berakhir. Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode random sampling.

B. Populasi dan Sampel penelitian

Subjek penelitian adalah larva nyamuk *Culex sp.* yang diperoleh dari hasil pengembangbiakan dari telur nyamuk *Culex sp.* Peneliti menggunakan sampel dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

1. Kriteria Inklusi :

- a) Menggunakan larva instar III nyamuk *Culex sp.*
- b) Umur larva antara 4-5 hari
- c) Jenis kelamin larva jantan dan betina
- d) Keadaan larva baik (sehat dan aktif)

2. Kriteria Eksklusi :

- a) Larva nyamuk *Culex sp.* yang belum mencapai instar III
- b) Larva yang telah berubah menjadi pupa ataupun nyamuk dewasa

Terdapat 7 sampel penelitian (pada konsentrasi 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5%, 0.3%, 0,1%) ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dan 2 kelompok kontrol (pada kontrol positif dan negative). Peneliti melakukan replikasi sebanyak empat kali pada setiap sampel penelitian. Setiap sampel terdiri atas 25 ekor larva nyamuk *Culex sp.* instar III. Jumlah seluruh sampel yang dibutuhkan sebanyak 750 larva. Jumlah larva yang diambil pada setiap sampel berdasarkan atas rata-rata pada sampel penelitian-penelitian tentang larvasida yang terdahulu.

Peneliti akan melaksanakan penelitian ini selama tiga sampai empat minggu pada bulan Maret 2013, dengan perincian satu minggu untuk ekstraksi dan 2-3 minggu untuk pelaksanaan penelitian. Penelitian akan dilakukan sepenuhnya di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian:

Penelitian akan dilakukan sepenuhnya di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Waktu penelitian :

Peneliti akan melaksanakan penelitian ini selama dua sampai tiga minggu pada bulan Maret 2013, dengan perincian satu minggu untuk ekstraksi dan 2-3 minggu untuk pelaksanaan penelitian.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Pada penelitian ini didapatkan variable-variabel sebagai berikut :

- 1) Variabel bebas : Ekstrak Ethanol biji buah ciplukan (*Physalis angulata*) pada berbagai konsentrasi (10%, 5%, 2%, 1%, 0.5%, 0.3%, 0.1%).
- 2) Variabel tergantung : Lethal Concentration 50 (LC₅₀), Lethal Concentration 90 (LC₉₀), dan Lethal Concentration 95 (LC₉₅).
- 3) Variabel pengganggu terkendali : Stadium larva nyamuk *Culex sp.*
- 4) Variabel pengganggu tidak terkendali : Variasi biologis dan variasi individual larva nyamuk *Culex sp.*

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

- 1) Ekstrak Ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) adalah bahan yang dihasilkan dari proses ekstraksi buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan pelarut Ethanol 96% yang kemudian peneliti tetapkan sebagai sampel dengan konsentrasi 100%. Pengenceran yang dilakukan dari konsentrasi 100%, dilakukan dengan menambahkan aquades sehingga peneliti akan mendapatkan konsentrasi yang diperlukan dalam penelitian sebesar 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5%, 0.3%, dan 0.1%.
- 2) Stadium larva adalah stadium larva instar III pada nyamuk *Culex sp.* yang memiliki usia antara 4-5 hari.
- 3) Daya larvasida ekstrak ethanol biji jeruk buah ciplukan (*Physalis angulata*) adalah daya membunuh yang dihasilkan oleh ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) terhadap larva nyamuk *Culex sp.*

ditentukan dalam LC (Lethal Concentration) ₅₀ ,LC (Lethal Concentration) ₉₀ , dan LC (Lethal Concentration) ₉₅.

- 4) LC (Lethal Concentration) ₅₀ adalah dalam suatu konsentrasi tertentu ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dapat membunuh populasi larva nyamuk *Culex Sp.* sebanyak 50%.
- 5) LC (Lethal Concentration) ₉₀ adalah dalam suatu konsentrasi tertentu ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dapat membunuh populasi larva nyamuk *Culex Sp.* sebanyak 90%.
- 6) LC (Lethal Concentration) ₉₅ adalah dalam suatu konsentrasi tertentu ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dapat membunuh populasi larva nyamuk *Culex sp.* sebanyak 95%.

E. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian :

1. Gelas plastik ukuran 250 ml
2. Gelas ukur
3. Pipet
4. Tabung reaksi
5. Blender
6. Ekstraktor
7. Evaporator
8. Kertas saring
9. Kain gelap
10. Counter

Bahan yang digunakan dalam penelitian :

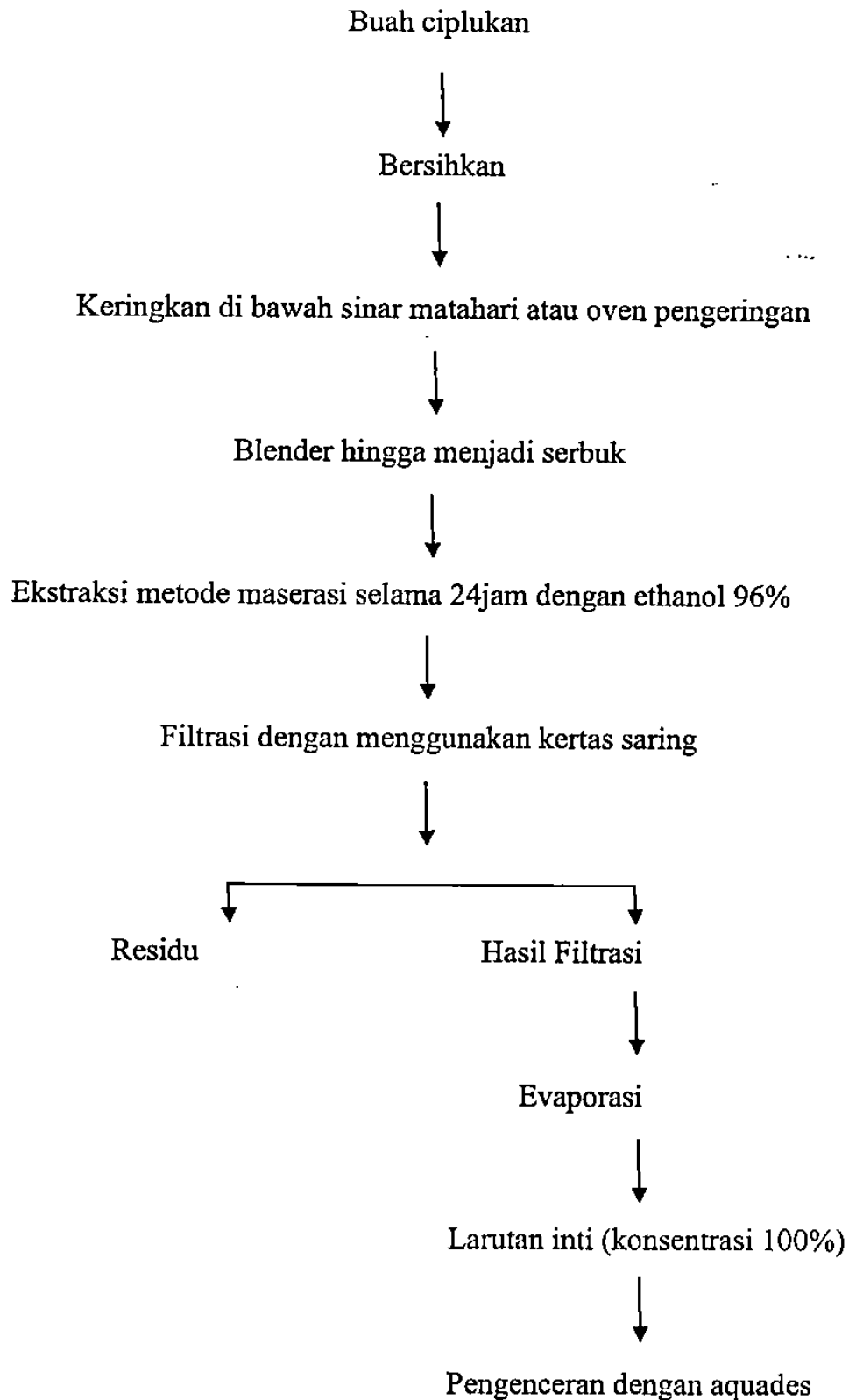
1. Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dalam berbagai konsentrasi (10%, 5%, 2%, 1%, 0.5%, 0.3%, 0.1%)
2. Buah ciplukan
3. Air bersih atau aquades
4. Ethanol 96%
5. Bubuk abate
6. Larva nyamuk *Culex sp.*
7. Fish food untuk makanan larva

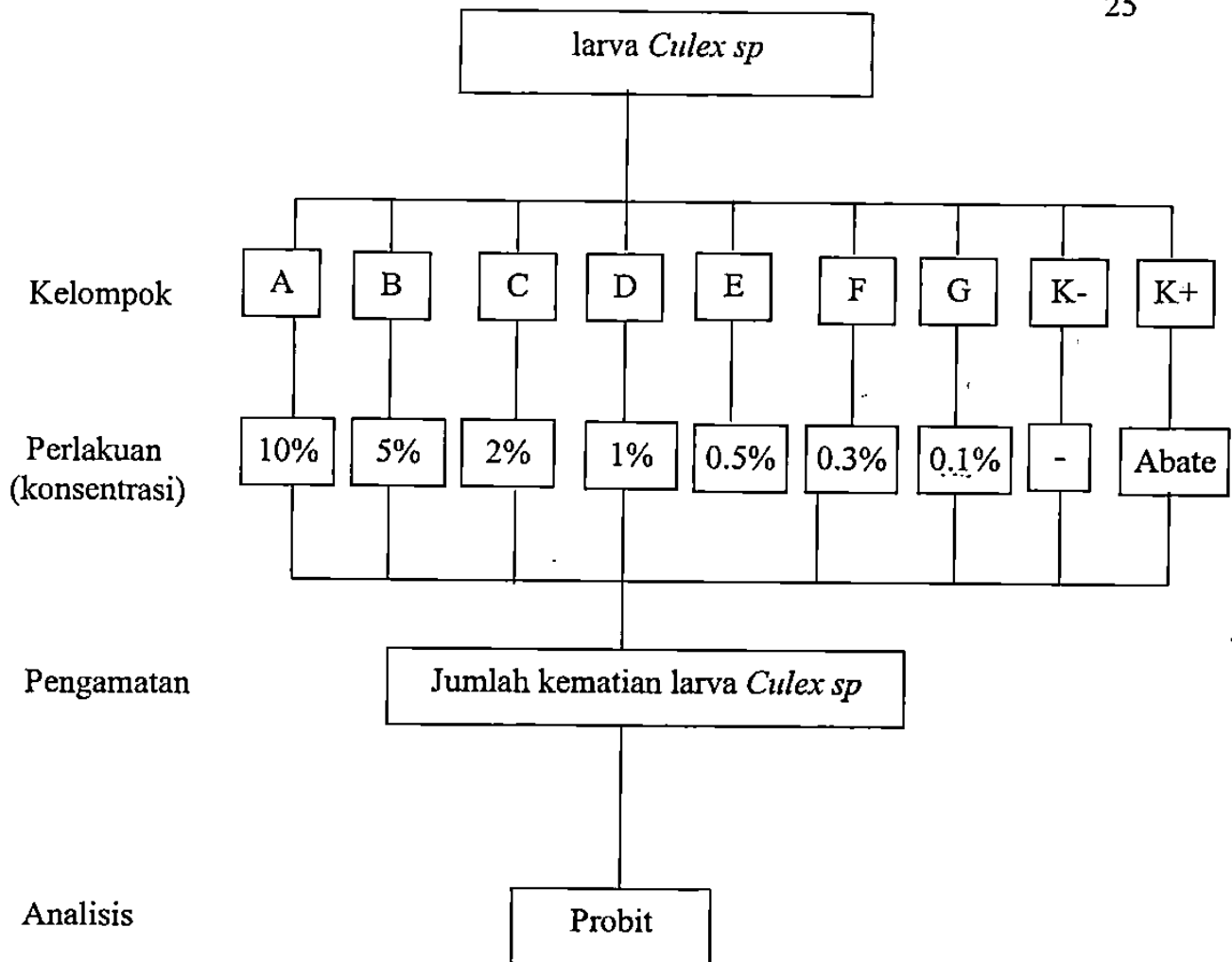
F. Cara Pengumpulan Data

- 1) Persiapan alat dan bahan

Pembuatan larutan inti dari ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) yang memiliki konsentrasi 100% di dalam 100 ml air

Proses pembuatannya sebagai berikut :





Gambar 8. Jalannya penelitian

2) Uji efek larvasida

Disiapkan 30 gelas plastik ukuran 250 ml sebagai media tumbuh larva (7 sampel dengan 4 kali replikasi dan 2 kontrol). Dua puluh delapan gelas plastik disiapkan dan dibagi menjadi 7 kelompok uji masing-masing konsentrasi sebanyak empat gelas plastik dengan perlakuan sebagai berikut :

- a. Kelompok A : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 10%.

b. Kelompok B : Ekstrak ethanol buah ciplukan (D')

- c. Kelompok C : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 2%.
- d. Kelompok D : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 1%.
- e. Kelompok E : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 0.5%.
- f. Kelompok F : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 0.3%.
- g. Kelompok G : Ekstrak ethanol buah ciplukan (*Physalis angulata*) dengan konsentrasi 0.1%.

Dua gelas plastik terakhir digunakan sebagai kontrol positif dengan menggunakan bubuk abate (temepos) dengan takaran 1 gram abate untuk 10 liter air, dan kontrol negatife dengan tanpa menggunakan apapun.

Larva nyamuk *Culex sp.* dimasukkan ke dalam gelas plastic pada masing-masing konsentrasi. Pada kontrol positif, gelas plastik diisi larva dan air aquades ditambahkan bubuk abate. Larva diberi makan fish food sebelum penelitian dilakukan.

Gelas plastik 250 ml pada kelompok uji, masing-masing diisi aquades 100 ml dan ditambahkan ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata*) berbagai konsentrasi, kemudian dihomogenkan. Larva instar III nyamuk *Culex sp.* (sebanyak 25 ekor larva) kemudian dimasukkan ke dalam gelas plastic

Pada kelompok kontrol positif, gelas plastik diisi aquades 100 ml dan larva instar III nyamuk *Culex sp.* (sebanyak 25 ekor larva) ditambahkan dengan bubuk abate (dosis 1g/10L air). Sedangkan pada kontrol negatif, gelas plastik diisi aquades 100 ml dan larva instar III nyamuk *Culex sp.* (sebanyak 25 ekor larva) tanpa ditambah perlakuan apapun.

Pengambilan data dihitung dengan menilai mortalitas larva *Culex Sp.* dalam 24 jam setelah perlakuan. Larva mati adalah larva yang tidak dapat diinduksi untuk bergerak ketika diperiksa dengan jarum. Larva hampir mati adalah mereka tidak mampu naik ke permukaan atau tidak menunjukkan reaksi menyelam karakteristik ketika air terganggu. Kemudian peneliti membuat dalam prosentase kumulatif. Prosentase dihitung dengan cara membagi jumlah mortalitas larva saat diperiksa dengan jumlah larva sebelum diperiksa dan dikalikan 100%.

G. Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis probit (Finney 1971) untuk mendapatkan nilai LC_{50} , LC_{90} , dan LC_{95} . Jika kontrol mortalitas adalah antara 5% dan 20%, maka kematian dari kelompok perlakuan harus dikoreksi dengan formula Abbott :

$$P = \frac{(P'-C)}{(100-C)} \times 100\%$$

Keterangan :

P = Persentase kematian larva

P' = Persentase kematian pada perlakuan

C = Persentase kematian pada kontrol