

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Desain penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) sebagai ovisida *Aedes aegypti* dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Keseluruhan penelitian ini dilakukan pada bulan November 2015.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi penelitian adalah telur *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Loka Penelitian dan Pengembangan (Litbang) Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis, Jawa Barat, telur didapatkan dalam bentuk kering pada kertas saring.

3.3.2. Sampel

Sampel yang digunakan 25 telur *Aedes aegypti* dengan pengulangan 4 kali sehingga didapatkan jumlah total sampel 600 telur.

Tabel 1. Jumlah sampel (WHO, 2005; Bria, 2008)

Perlakuan	Jumlah telur x jumlah pengulangan	Total
kontrol (-) : 0%	25 telur x 4	100 telur
Perlakuan I : 0,1%	25 telur x 4	100 telur
Perlakuan II : 0,3%	25 telur x 4	100 telur
Perlakuan III : 0,5%	25 telur x 4	100 telur
Perlakuan IV : 0,7%	25 telur x 4	100 telur
Perlakuan V : 1 %	25 telur x 4	100 telur
Jumlah total telur yang dipakai dalam penelitian		600 telur

3.4. Identifikasi dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1. Identifikasi Variabel

- a. Variabel bebas atau *independent variable* penelitian ini adalah ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) dengan 6 konsentrasi yaitu 0%; 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,75; dan 1%.
- b. Variabel terikat atau *dependent variable* dalam penelitian ini adalah telur *Aedes aegypti* yang tidak menetas.

3.4.2. Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi operasional	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
1.	Variabel bebas: Ekstrak daun cengkeh (<i>Syzygium aromaticum L</i>) (<i>Syzygium aromaticum L</i>)	Ekstrak daun cengkeh (<i>Syzygium aromaticum L</i>) menggunakan pelarut etanol 96%. Dinyatakan dalam persen (%). Setiap konsentrasi dibuat pengenceran. Pada penelitian ini dipakai konsentrasi 0,1%;0,3%;0,5%; 0,7%; 1%.	Menimbang ekstrak dan menghitung dengan rumus $V_1M_1 = V_2M_2$	Analytical Balance, gelas ukur, pipet tetes	Didapatkan konsentrasi ekstrak daun cengkeh (0,1%;0,3%;0,5%;0,7%; 1%)	Ordinal
2.	Variabel terikat: Telur <i>Aedes aegypti</i> yang tidak menetas	Telur yang tidak menjadi larva setelah diletakkan didalam media air.	Mengecek dan mencatat jumlah telur yang tidak menetas pada tiap pengulangan setiap 24 jam sekali selama 3 hari pengamatan	<i>Hand counter</i>	Telur aedes aegypti yang tidak menetas (0-25 telur)	Rasio

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat untuk preparasi bahan uji yaitu:
 - 1) Kaca pembesar untuk memisahkan telur dalam jumlah yang ditentukan.
 - 2) *Hand couter* untuk menghitung jumlah telur.
- b. Alat untuk pembuatan ekstrak daun cengkeh, yaitu
 - 1) Timbangan untuk menimbang daun cengkeh yang diperlukan.
 - 2) Blender untuk menghaluskan daun cengkeh.
 - 3) Toples dan kain kasa untuk proses maserasi daun cengkeh.
 - 4) Gelas ukur 100 ml untuk mengukur ekstrak daun cengkeh.
 - 5) Kertas saring dan labu Erlenmeyer untuk memisahkan hasil maserasi dengan ampasnya.
 - 6) *Rotatory Evaporator*.
 - 7) Pipet ukuran 1 ml untuk mengambil ekstrak daun cengkeh.
- c. Alat untuk uji efektivitas
 - 1) Gelas ukur 250 ml untuk mengukur jumlah air yang diperlukan.
 - 2) Gelas plastik ukuran 250 ml untuk tempat pelakuan telur.
 - 3) Batang pengaduk.
 - 4) Ph stick untuk mengetahui suhu media.
 - 5) Termometer untuk mengukur suhu media.

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Daun cengkeh kering sebanyak 3 kg
- b. Ethanol 96 % sebanyak 8 L sebagai pelarut saat pembuatan stok ekstrak
- c. Akuades untuk melakukan pengenceran ekstrak
- d. Telur *Aedes aegypti* dari strain Liverpool F-48.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Persiapan Bahan uji

Telur nyamuk *Aedes aegypti* yang dipakai pada penelitian ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* F-48 strain Liverpool yang diperoleh dari ruang insektarium Loka Penelitian dan Pengembangan (Litbang) Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis, Jawa barat. Daun cengkeh didapatkan dari lingkungan sekitar peneliti di daerah Lampung.

3.6.2. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) ini menggunakan daun cengkeh kering yang didapatkan dari lingkungan peneliti. Pelarutnya berupa ethanol 96% sebanyak 8000 ml. daun cengkeh kering sebanyak 3 kg yang telah didapat lalu di blender tanpa air dan ditimbang 1 kg kemudian direndam selama 24 jam dengan etanol 96%, setelah direndam bahan tersebut disaring menggunakan kain kassa. Hasil maserasi yang disebut

maserat, dipekatkan dengan suhu 40-50⁰C dalam *Rotary Evaporator*. Untuk membuat berbagai konsentrasi yang diperlukan dapat digunakan rumus $V_1M_1 = V_2M_2$ keterangan :

V_1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M_1 = Konsentrasi ekstrak daun cengkeh yang tersedia (%)

V_2 = Volume larutan (air + ekstrak) yang diinginkan (ml)

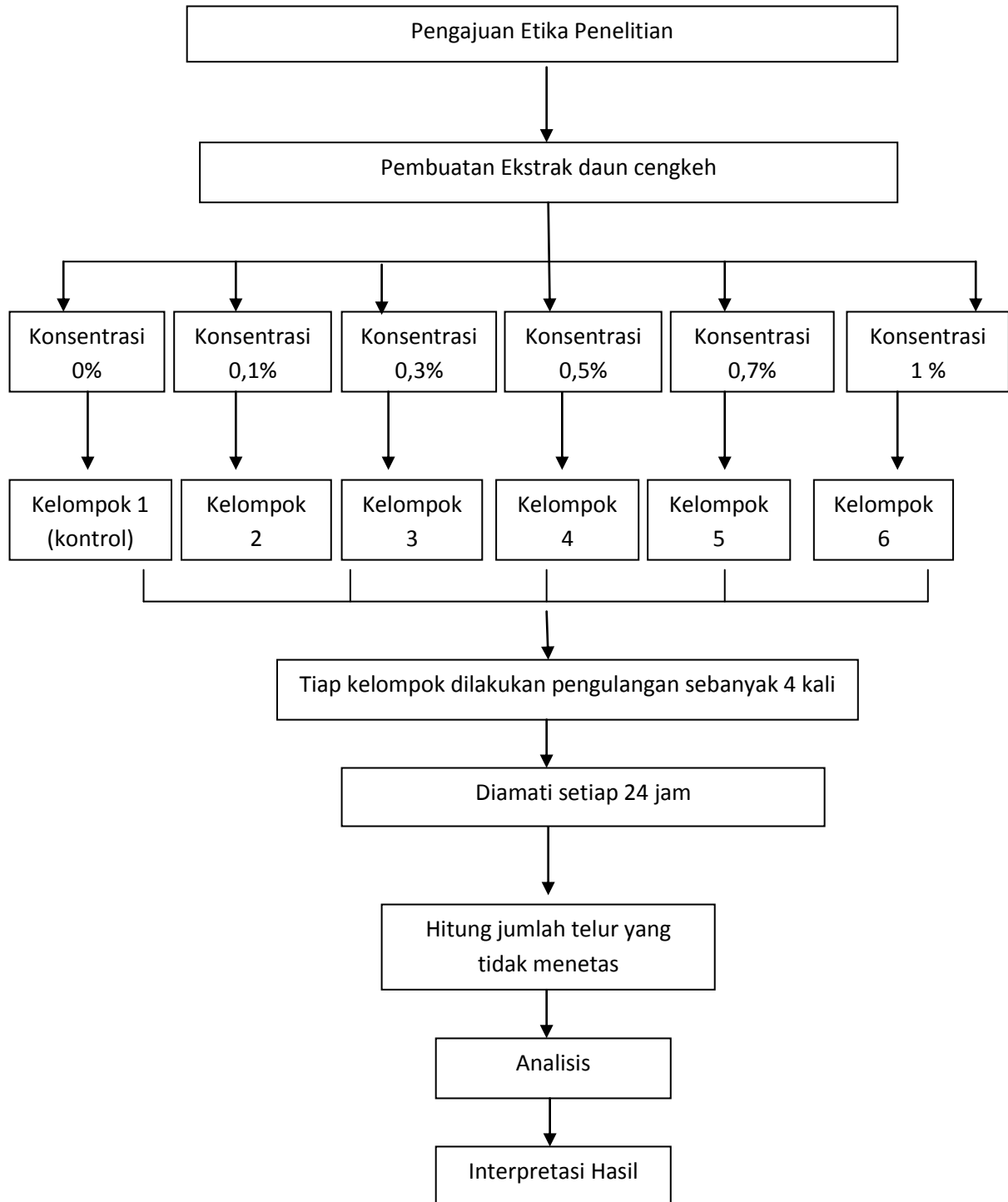
M_2 = konsentrasi ekstrak daun cengkeh yang akan dibuat (%)

Tabel3. Jumlah ekstrak Daun Cengkeh yang dibutuhkan

M_1	V_2	M_2	$V_1 = \frac{V_2 \cdot M_2}{M_1}$	Pengulangan ($V_1 \times 4$)
100 %	200 ml	1%	2 ml	8 ml
100 %	200 ml	0,7%	1,4 ml	5,6 ml
100 %	200 ml	0,5%	1 ml	4 ml
100 %	200 ml	0,3%	0,6 ml	2,4 ml
100%	200 ml	0,1%	0,2 ml	0,8 ml
			Total	20,8 ml

3.7. Alur Penelitian

Untuk memperjelas proses penelitian, maka disajikan diagram alur penelitian sebagai berikut:



Gambar 11. Alur Penelitian.

3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diuji analisis menggunakan pengamatan menggunakan *software* statistik. Data dari hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Data yang didapatkan berupa data berdistribusi tidak normal, sehingga dilakukan dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Setelah dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-wallis* didapatkan hasil berupa nilai $p < \alpha$ ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan analisis post hoc pada taraf kepercayaan 0,05 (Dahlan, 2011). Pada penelitian ini juga dilakukan uji probit untuk mengetahui kematian 50% (ED_{50}) dan 99% (ED_{99}) dari jumlah sampel.

3.9. Aspek penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan keterangan Lolos Kaji Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tanggal 16 desember 2015 melalui surat nomor : 2725/UN26/8/DT/2015 (Lampiran 1)