

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap.

### **3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober–Desember 2014 di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Kimia MIPA.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

Populasi pada penelitian ini adalah telur nyamuk *Aedes aegypti*. Dengan bibit telur nyamuk didapatkan dari Loka Litbang P2B2 Ciamis. Sampel pada penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

#### **3.3.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah telur *Aedes aegypti*.

### 3.3.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah bukan telur bebas.

### 3.3.3 Besar Sampel

Berdasarkan acuan WHO tahun 2005, maka penelitian ini membutuhkan total sebanyak 500 telur dengan rincian sebagai berikut:

**Tabel 2.** Jumlah total sampel

Perlakuan	Dosis	Jumlah telur x Pengulangan	Total
Kontrol negatif	0%	25telur x 4	100 telur
Perlakuan I	0.125%	25telur x 4	100 telur
Perlakuan II	0.25%	25telur x 4	100 telur
Perlakuan III	0.5%	25telur x 4	100 telur
Perlakuan IV	1%	25telur x 4	100 telur
Total			500 telur

## 3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian terdiri dari dua jenis, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*), sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah telur nyamuk *Aedes aegypti*.

## 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

### a. Alat Untuk Preparasi Bahan Uji

1. Kaca pembesar untuk memisahkan telur dalam jumlah yang telah ditentukan
2. *Hand counter* untuk menghitung jumlah telur.

b. Alat Untuk Pembuatan Larutan Uji

1. Timbangan untuk menimbang bunga krisan yang diperlukan.
2. Blender untuk menghaluskan bunga krisan yang sudah kering
3. Stoples dan kain kasa untuk proses maserasi bunga krisan
4. Baskom untuk membuat ekstrak bunga krisan
5. Saringan
6. *Rotary evaporator* untuk membuat ekstrak bunga krisan
7. Pipet tetes untuk mengambil ekstrak bunga krisan
8. Gelas ukur dan botol tertutup sebagai tempat untuk ekstrak bunga krisan

c. Alat Untuk Uji Efektifitas

1. Gelas ukur 250 ml untuk mengukur jumlah air yang dibutuhkan
2. Gelas plastik ukuran 250 ml untuk tempat perlakuan telur
3. Batang pengaduk
4. Thermometer untuk menghitung suhu
5. PH stik untuk mengukur PH media
6. Ekstrak bunga krisan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) sebanyak 2,5 kg basah, etanol 96% sebagai pelarut saat pembuatan stok ekstrak, aquades sebagai pengencer stok ekstrak untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan, dan telur *Aedes aegypti* yang didapatkan dari Loka Litbang P2B2 Ciamis.

### 3.6 Definisi Operasional

Untuk memudahkan pelaksanaan penelitian dan agar ruang lingkup penelitian tidak terlalu luas maka dibuat definisi operasional sebagai berikut :

**Tabel 3.** Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
<b>Variabel bebas:</b>  Berbagai konsentrasi ekstrak bunga krisan ( <i>Chrysanthemum morifolium</i> )	Ekstrak bunga krisan ( <i>Chrysanthemum morifolium</i> ) didapatkan dengan proses maserasi dengan etanol 96% dan dinyatakan dalam persen (%) dimana masing-masing konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran. Pada penelitian ini dipakai konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5% dan 1% (Aulia, 2014)	Menimbang ekstrak dan menghitung rumus $M1 \ V1 = M2 \ V2$	<i>Analytical Balance</i> , gelas ukur, pipet tetes	Didapatkan ekstrak Bunga krisan dengan konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5% dan 1%	Ordinal
<b>Variabel Terikat:</b>  Telur <i>Aedes aegypti</i> yang tidak menetas	Telur tidak menjadi larva setelah diletakkan di dalam media air (Cania, 2013)	Hitung jumlah telur yang tidak menetas tiap perlakuan dan pengulangan setiap enam jam sekali selama tiga hari pengamatan	<i>Hand counter</i>	Telur <i>Aedes aegypti</i> yang tidak menetas (0–25 telur)	Numerik (rasio)

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### a. Preparasi bahan uji

Telur nyamuk *Aedes aegypti* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Ruang Insektarium Loka Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang Ciamis, Pangandaran, Jawa Barat. Telur kemudian diletakkan kedalam gelas plastik yang berisi ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*).

#### b. Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) ini menggunakan bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) yang didapat dari toko bunga yang bernama Dian di Kedaton, Bandar Lampung. Pelarutnya berupa etanol 96 %. Bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) sebanyak 2,5 kg yang telah didapat kemudian dibersihkan dengan menggunakan air, kemudian bunga krisan di keringkan dengan menjemur bunga krisan. Lalu, dicacah halus atau diblender kering (tanpa air). Setelah diblender potongan bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) ditimbang terlebih dahulu baru kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, potongan bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) direndam selama 24 jam di dalam etanol 96 %. Setelah direndam selanjutnya bahan tersebut disaring sehingga diperoleh hasil akhirnya berupa ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dengan konsentrasi 100%. 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 bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*)

Yang tersedia (%)

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

$M_2$  = Konsentrasi ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*)

Yang akan dibuat (%)

**Tabel 4.** Jumlah ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) 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	0,5 %	1 ml	4 ml
100 %	200 ml	0,25 %	0,5 ml	2 ml
100 %	200 ml	0,125 %	0,25 ml	1 ml
Total				15 ml

### c. Uji Efektifitas

Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dengan konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5% dan 1%. Uji efektifitas ini dilakukan untuk menentukan nilai *Efektif Doses* 50 (ED<sub>50</sub>) dan *Efektif Doses* 99 (ED<sub>99</sub>) dan konsentrasi yang paling efektif sebagai ovisida telur *Aedes aegypti*. Kemudian ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dimasukan ke dalam gelas plastik yang sudah berisi telur *Aedes aegypti* lalu didiamkan selama enam jam (Astuti, 2011), setelah itu memasukkan aquades sehingga jumlah aquades dan ekstrak adalah 200 ml. Pada kelompok kontrol negatif diberikan air sumur pada gelas yang sudah berisi telur. Masing-masing perlakuan berisi 25

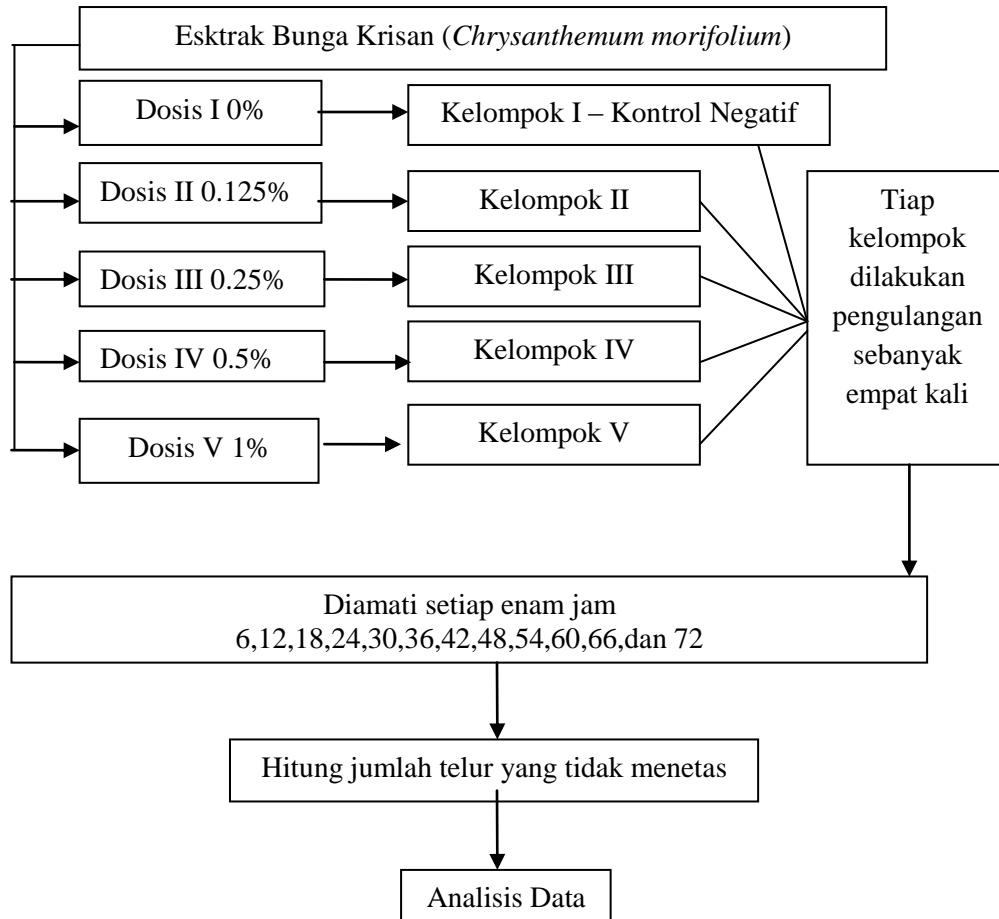
butir telur dengan pengulangan sebanyak empat kali. Kemudian dilakukan pengamatan setiap enam jam sekali sampai hari ke tiga (Bria, 2008). Data pengamatan pada hari ke tiga akan diakumulasi kemudian akan dianalisis dengan uji *one way* ANOVA, bila *p value* < 0,05. Maka dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang bermakna. Uji *Post Hoc* untuk *one way* ANOVA adalah Bonferroni.

**d. Menentukan Nilai ED<sub>50</sub> dan ED<sub>99</sub>**

Kelompok perlakuan terdiri dari satu kontrol negative dan empat konsentrasi ekstrak bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*). Tiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali dan diamati setiap enam jam dan dilakukan selama 72 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah telur yang mati kemudian data jam ke 72 pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis probit hingga diperoleh nilai ED<sub>50</sub> dan ED<sub>99</sub>.

### 3.8 Alur Penelitian

Adapun alur penelitian pada penelitian ini adalah sebagai berikut



Gambar 13. Alur penelitian

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh di uji analisis statistik menggunakan program pengolah data di komputer. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan uji analisis *one way* ANOVA. Berikut adalah langkah-langkah melakukan ujian analisis *one way* ANOVA



1. Memeriksa syarat uji parametrik *one way* ANOVA untuk lebih dari dua kelompok tidak berpasangan:
  - a. Distribusi data harus normal (wajib);
  - b. Varians data harus sama;
2. Jika tidak memenuhi syarat, maka akan diupayakan melakukan transformasi data supaya distribusi menjadi normal dan varians sama;
3. Jika variabel hasil transformasi tidak memenuhi syarat, maka akan dipilih uji non parametrik *Kruskal Wallis*;
4. Jika pada uji *one way* ANOVA atau *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai  $p < 0,05$  (hipotesis dianggap bermakna), dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc* Bonferroni untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang lebih terinci

### **3.10 Etika Penelitian**

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk mendapatkan *etical clearance* dengan nomor surat 2286/UN26/8/DT/2014.