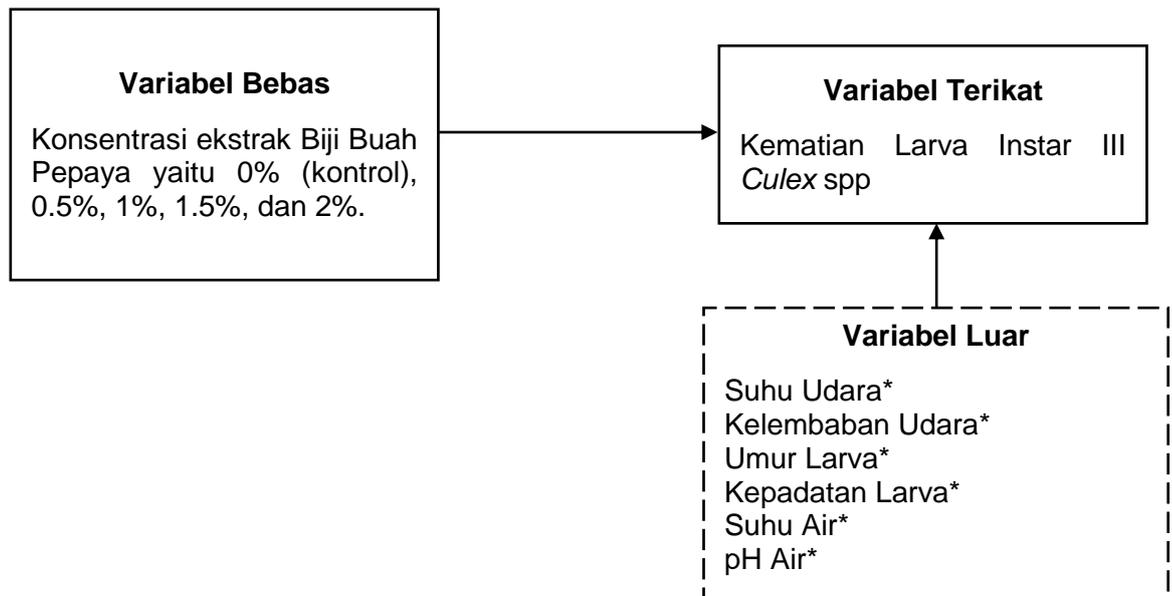


## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Kerangka Konsep



**Gambar 3.1** Kerangka Konsep

Keterangan: \*) variabel dikendalikan

#### B. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh larvasida ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L*) pada berbagai konsentrasi terhadap kematian larva instar III *Culex* spp.
2. Terdapat konsentrasi terbaik dari ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L*) sebagai larvasida terhadap kematian larva *Culex* spp.

### C. Variabel Penelitian

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak biji buah pepaya yaitu 0% (kontrol), 0.5%, 1%, 1.5%, dan 2%.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah kematian larva instar III *Culex* spp.

#### 3. Variabel Luar

##### a. Suhu Udara

Suhu udara dikendalikan dengan cara melakukan uji insektisida dalam ruangan tertutup, dengan menyamakan suhu ruangan yaitu 20°C - 30°C.

##### b. Kelembaban Udara

Kelembaban udara dikendalikan dengan cara melakukan uji insektisida dalam ruangan tertutup dengan menyamakan tempat, sehingga akan diperoleh kisaran kelembaban udara yaitu kelembaban antara 40% - 70%.

##### c. Umur larva

Umur larva dikendalikan dengan cara menyamakan usia larva yaitu larva instar III.

##### d. Kepadatan larva

Kepadatan larva dikendalikan dengan menyamakan jumlah larva sebanyak 25 larva/gelas uji, tempat dan volume air yang digunakan yaitu 200 ml.

## e. Suhu air

Suhu air pada larutan uji larvasida dikendalikan dengan cara menyamakan suhu air dengan suhu 28°C - 30°C.

## f. pH Air

pH air dikendalikan dengan menyamakan pH air uji larvasida yaitu pada pH 5,8 - 8,6.

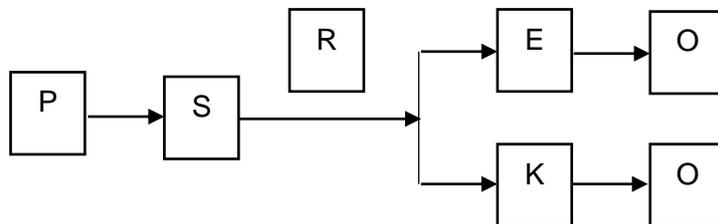
#### D. Definisi Operasional

**Tabel 3.1** Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<b>Variabel Bebas</b>					
Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Pepaya	Ekstrak Biji Buah Pepaya adalah hasil dari ekstraksi maserasi etanol 96%	Menghitung sediaan hasil ekstraksi dengan rumus $V1 \times M1 = V2 \times M2$	Gelas ukur dan pipet tetes.	Ekstrak Biji Buah Pepaya dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 1.5%, 2% dan kontrol 0%.	Nominal
<b>Variabel Terikat</b>					
Kematian larva <i>Culex</i> spp	Jumlah kematian pada larva nyamuk <i>Culex</i> spp ditandai dengan: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nyamuk tenggelam ke dasar.</li> <li>2. Tidak aktif bergerak.</li> <li>3. Tidak memiliki respon terhadap rangsangan setelah diberi perlakuan</li> </ol>	Dihitung manual	Lembar observasi penelitian	Rata-rata kematian larva	Rasio

## E. Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan *Post test only control grup design*. Dimana subyek dalam penelitian ini dibagi dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah tenggang waktu yang telah ditentukan kemudian diukur variabel ter coba pada kelompok tersebut. Perbedaan hasil observasi dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan efek perlakuan.



**Gambar 3.2** Modifikasi Skema Rancangan Penelitian (Yusuf, 2017)

Keterangan:

P : Populasi

S : Sampel (Larva Culex)

R : Randomisasi

E : Perlakuan (ekstrak biji buah pepaya dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 1.5%, dan 2%).

K : Kontrol 0% (air sumur)

O : Observasi pada setiap perlakuan

Adapun layout penempatan seluruh wadah sampel sesuai dengan rancangan acak lengkap dalam penelitian yang akan dilaksanakan ini adalah seperti tertera dalam gambar sebagai berikut:

A4	B2	E4	E5	A2
C3	A1	C2	D1	B5
A5	C4	B4	D4	D5
B3	E3	E2	D3	C5
D2	C1	E1	B1	A3

**Gambar 3.3** Layout Penelitian

Keterangan:

A = Kelompok kontrol	1 = Replikasi ke-1
B = Perlakuan konsentrasi 0.5%	2 = Replikasi ke-2
C = Perlakuan konsentrasi 1%	3 = Replikasi ke-3
D = Perlakuan konsentrasi 1.5%	4 = Replikasi ke-4
E = Perlakuan konsentrasi 2%	5 = Replikasi ke-5

## F. Populasi dan Sampel

### 1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua larva nyamuk *Culex* spp Instar III di Loka Litbang Kesehatan Pangandaran.

### 2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah larva *Culex* spp instar III dengan Jumlah sampel yaitu 625 larva *Culex*, dengan ketentuan sebanyak 25 larva untuk setiap kelompoknya disesuaikan dengan pertimbangan untuk eksperimen menurut WHO (2005) adalah 20-25 ekor. Dimana terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan, masing – masing kelompok 5 kali pengulangan. Jumlah replikasi atau pengulangan ditentukan menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

Keterangan :

t (treatment) = menunjukkan banyaknya perlakuan  
 r (replikasi) = menunjukkan banyaknya pengulangan  
 15 = Konstanta (bilangan tetap)

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

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$5r - 5 - r + 1 \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4.75$$

$$r \geq 5 \text{ dibulatkan}$$

Sampel = jumlah nyamuk x jumlah perlakuan x jumlah replikasi

$$= 25 \text{ nyamuk} \times 5 \text{ perlakuan} \times 5 \text{ replikasi} = 625 \text{ larva}$$

Pemilihan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan cara *Simple Random Sampling* dimana setiap anggota memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel. Untuk memudahkan dalam penentuan sampel maka dipakai kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Larva *Culex* spp yang telah mencapai instar III usia 1-2 hari
- 2) Larva bergerak aktif

b. Kriteria Eksklusi

Larva *Culex* spp instar III yang mati sebelum diberi perlakuan

## G. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data didapatkan dari hasil eksperimen dengan cara mengamati dan menghitung jumlah kematian larva *Culex* spp setelah terpapar

ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L*) dengan berbagai konsentrasi yang berbeda dan dengan batas lama pajanan yang ditentukan yaitu selama 24 jam diamati setiap menit ke 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 480 dan 1440 (Arismawati *et, al.*, 2017).

## H. Instrumen Penelitian

### 1. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2 kelompok yaitu alat yang digunakan untuk ekstraksi dan alat untuk menguji efektivitas ekstrak biji buah pepaya (alat untuk penelitian).

#### a. Alat untuk ekstraksi biji buah pepaya

- 1) Timbangan
- 2) Nampan
- 3) Blender
- 4) Toples kaca
- 5) Botol kaca
- 6) Gelas ukur
- 7) Pengaduk
- 8) *Aluminium foil*
- 9) Kain saring
- 10) Saringan (Corong kaca)
- 11) Kertas saring *Whatman*
- 12) *Rotary evaporator*
- 13) Masker
- 14) Sarung tangan

15) Label dan alat tulis

b. Alat untuk penelitian

- 1) Gelas plastik (kontainer)
- 2) *Micropipet*
- 3) Pipet
- 4) Pengaduk
- 5) *Beaker glass* (gelas kimia)
- 6) Kertas Label
- 7) Gelas ukur
- 8) Saringan kecil (saringan larva)

**2. Bahan Penelitian**

a. Bahan untuk ekstraksi biji buah pepaya

- 1) Biji buah pepaya (*Carica papaya L*)
- 2) *Etanol* 96%

b. Bahan untuk penelitian

- 1) Larva *Culex* spp Instar III
- 2) Ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L*)
- 3) Air sumur

**I. Prosedur Penelitian**

1. Pembuatan Ekstrak Biji Buah Pepaya

Ekstrak biji buah pepaya dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan pelarut *etanol* 96%. Adapun prosesnya sebagai berikut:

- a. Biji buah pepaya didapatkan dari buah pepaya varietas *California* yang telah matang (usia 4-5 bulan) berwarna kuning kemerah-

- merahan diperoleh dari perkebunan pepaya di Kota Banjar dan sebagai konsumsi rumahan yang telah dimanfaatkan sebelumnya untuk keperluan makanan yang kemudian limbah biji buah pepaya diambil dan dikumpulkan. Biji buah pepaya yang telah dikumpulkan dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan tanpa terkena sinar matahari langsung untuk menghilangkan *pulp* (selaput pembungkus biji). Biji buah pepaya yang telah kering dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Kemudian biji buah pepaya yang telah halus dengan massa 180 gram dimasukkan kedalam wadah untuk dimaserasi di dalam toples kaca menggunakan pelarut *etanol* 96% sebanyak 700 mL (hingga terlarut) dengan cara diaduk menggunakan batang pengaduk, kemudian gelas kimia ditutup menggunakan *aluminium foil* dan plastik *wrap* agar tertutup rapat, lalu didiamkan selama 24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan, hasil maserasi tahap pertama disaring menggunakan corong yang dialasi kertas saring untuk dipisahkan antara ampas dan filtrat.
- b. Ampas biji buah pepaya direndam kembali (remaserasi ke II) menggunakan etanol 96% sebanyak 400 mL selama 24 jam, lalu dilakukan penyaringan sama seperti penyaringan tahap pertama.
  - c. Ampas biji buah pepaya dari remaserasi ke II direndam kembali selama 24 jam menggunakan etanol 96% sebanyak 300 mL (remaserasi ke III), penyaringan pada tahap ketiga juga sama seperti penyaringan yang dilakukan pada tahap I dan II.
  - d. Hasil dari penyaringan (filtrat) maserasi tahap I, II dan III

dimasukkan ke *rotary evaporator* dengan suhu 70°C (titik didih etanol) agar etanol menguap. Serangkaian proses maserasi dari mulai persiapan, tahap pertama sampai tahap ketiga dilakukan di rumah.

- e. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Stikes BTH Tasikmalaya sampai diperoleh ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*). Ekstrak kental yang telah dihasilkan ditimbang dan disimpan dalam botol gelas, ditutup menggunakan *aluminium foil* dan plastik *wrap*. Menyimpan ekstrak ke dalam lemari es agar tetap dalam kondisi baik sebelum digunakan untuk pengujian.

## 2. Tahap Persiapan

- a. Menyiapkan larva *Culex* spp yang telah dipelihara oleh Loka Litbang Pangandaran, Jawa Barat yang sebelumnya didapatkan dari lapangan.
- b. Menyiapkan air sumur sebagai pelarut dalam penelitian ini.
- c. Menyiapkan larutan uji.

Larutan stok ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) akan diencerkan dengan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan :

V1= Volume larutan mula-mula (ml)

M1= Konsentrasi larutan mula-mula (%)

V2= Volume larutan sesudah diencerkan (ml)

M2= Konsentrasi larutan sesudah diencerkan (%)

## a. Konsentrasi 0% (kontrol)

Kontrol yang digunakan adalah air sumur sebanyak 200 ml.

## b. Konsentrasi 0.5 % dengan perhitungan:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 200 \times 0.5$$

$$V1 \times 100 = 100$$

$$V1 = \frac{100}{100}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Mengukur 1 ml ekstrak biji buah pepaya 100% dengan mikropipet lalu mencampurinya lagi dengan 199 ml air sumur.

## c. Konsentrasi 1 % dengan perhitungan:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 200 \times 1$$

$$V1 \times 100 = 200$$

$$V1 = \frac{200}{100}$$

$$V1 = 2 \text{ ml}$$

Mengukur 2 ml ekstrak biji buah pepaya 100% dengan mikropipet lalu mencampurinya lagi dengan 198 ml air sumur.

## d. Konsentrasi 1.5 % dengan perhitungan:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 200 \times 1.5$$

$$V1 \times 100 = 300$$

$$V1 = \frac{300}{100}$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

Mengukur 3 ml ekstrak biji buah pepaya 100% dengan mikropipet lalu mencampurinya lagi dengan 197 ml air sumur.

e. Konsentrasi 2% dengan perhitungan:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 200 \times 2$$

$$V1 \times 100 = 400$$

$$V1 = \frac{400}{100}$$

$$V1 = 4 \text{ ml}$$

Mengukur 4 ml ekstrak biji buah pepaya 100% dengan mikropipet lalu mencampurinya lagi dengan 196 ml air sumur.

- d. Menyiapkan 24 buah gelas uji sebagai wadah larutan dalam penelitian ini, 4 gelas uji untuk kontrol dimana tidak diberi perlakuan dan 20 gelas uji untuk perlakuan.
- e. Menyiapkan alat pengaduk untuk menyentuh larva agar diketahui ada respon atau tidak.

### 3. Tahap Uji Penelitian

- a. Siapkan 24 gelas uji dan 24 gelas plastik yang berisi larva *Culex* instar III masing-masing 25 ekor larva.
- b. Masukkan air sumur sebanyak 100 ml kedalam 20 gelas uji, kemudian memasukkan ekstrak biji buah pepaya yang telah diencerkan ke 20 gelas uji dengan perlakuan masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan. Setelah semua ekstrak dimasukkan ke dalam semua gelas uji, lalu air sumur ditambahkan kembali sampai volume dalam gelas uji mencapai 200 ml.

- c. 4 gelas uji sebagai kontrol hanya diisi air sumur sebanyak 200 ml, lalu masukan larva ke setiap wadah masing-masing berisi 25 ekor larva.
- d. Mengamati dan mencatat jumlah kematian larva pada kelompok kontrol dan masing–masing kelompok perlakuan setelah dikontakan selama 24 jam diamati setiap menit ke 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 480 dan 1440 (Arismawati *et, al.*, 2017). Larva dianggap mati atau dianggap hidup ditentukan dengan cara :
  - 1) Larva yang dianggap mati apabila larva diberi rangsangan berupa gerakan air tidak ada respon gerakan, dan larva di sentuh dengan alat pengaduk tidak ada respon gerakan.
  - 2) Larva dianggap hidup apabila larva aktif bergerak, larva diberi rangsangan gerakan air ada respon gerakan, dan saat larva disentuh dengan alat pengaduk ada respon gerakan.

## J. Pengolahan dan Analisis data

Setelah diperoleh data jumlah larva nyamuk *Culex* spp yang mati, maka dilakukan pengimputan, pengolahan dan analisis data dengan menggunakan SPSS.

### 1. Analisis Deskriptif

Analisis yang digunakan dengan menjabarkan secara deskriptif untuk melihat distribusi dari variabel-variabel yang diteliti. Analisis yang digunakan *mean* dan persentase. Selanjutnya dilakukan analisis probit untuk mengetahui dosis ekstrak yang tepat dalam membunuh 50% dan 90% dari total larva uji yang digunakan ( $LC_{50}$ ) dan ( $LC_{90}$ ).

## 2. Analisis Inferensial

Sebelum dilakukan analisis statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel pada penelitian ini kurang dari 30. Dikarenakan data hasil penelitian memiliki jenis rasio, maka terdapat dua kemungkinan analisis atau uji hipotesis, yaitu dengan cara parametrik atau non parametrik. Maka dari itu, perlu di uji normalitas data.

### 1. Uji Normalitas

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui apakah variabel bebas dan terikat mempunyai distribusi normal atau tidak. Pengujian ini menggunakan uji *Shapiro-wilk*. Hasil uji normalitas dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3.2 Hasil Uji Normalitas

	Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Pepaya ( <i>Carica papaya L</i> )	<i>Shapiro-wilk</i>		
		Statistik	df	Sig
Kematian Larva <i>Culex</i> spp	0.5%	.897	5	.201
	1%	.914	5	.494
	1.5%	.771	5	.046

Dari tabel 3.2 di atas menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada ekstrak biji buah pepaya konsentrasi 0.5% dan 1% memiliki nilai  $p > 0,05$  maka data berdistribusi normal, pada konsentrasi 1.5% nilai  $p < 0,05$  maka data berdistribusi tidak normal. Sedangkan, pada konsentrasi 2% hasilnya tidak keluar dikarenakan hasil sama yang disebabkan semua larva mati. Karena terdapat nilai signifikansi kurang dari 0,05, maka tidak memenuhi syarat uji Anova, sehingga harus dilakukan alternatif pengujian dengan *Kruskal wallis*.

Setelah itu dilakukan uji untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L*) yaitu:

- a) Dari hasil uji normalitas, data berdistribusi tidak normal. Maka untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak biji buah pepaya terhadap kematian larva menggunakan uji *Kruskal Wallis*.
- b) Selanjutnya dilakukan uji lanjutan yaitu untuk melihat perbedaan tiap konsentrasi pada data tidak normal menggunakan uji *Mann-whitney*.