

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design*, di mana pengamatan variabel hasil berupa daya bunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* hanya dilakukan setelah perlakuan diberikan. Jenis penelitian ini dipilih karena memenuhi ketiga syarat utama *true experimental*, yaitu adanya kelompok kontrol berupa kelompok larva tanpa paparan ekstrak, kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun kamboja 0,16%; 0,32%; 0,64%; dan 1,28%, serta randomisasi dalam penempatan larva ke setiap kelompok. Selain itu, variabel pengganggu dikendalikan secara ketat meliputi suhu air, pH, volume larutan, jumlah larva, umur larva (instar III), dan lama waktu paparan (6 jam), sehingga perbedaan hasil kematian larva yang diperoleh benar-benar mencerminkan pengaruh konsentrasi ekstrak daun kamboja yang diberikan.

Tabel 2
Rancangan Penelitian

Kelompok	Perlakuan	Post-test
P1	E1 (0,16%)	O
P2	E2 (0,32%)	O
P3	E3 (0,64%)	O
P4	E4 (1,28%)	O
K	Tanpa perlakuan	O

Keterangan:

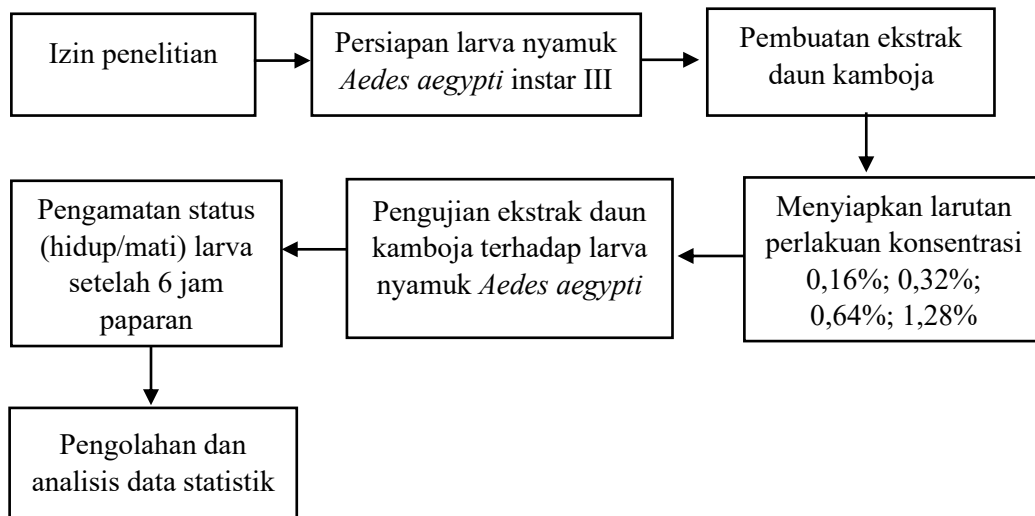
P1-P4 : Kelompok perlakuan

K : Kontrol

E1-E4 : Perlakuan atau penambahan ekstrak daun kamboja

O : Observasi

B. Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Denpasar yang beralamat di Jl. Sanitasi No. 1, Sidakarya, Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan setelah persetujuan proposal skripsi yang dimana waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Mei tahun 2026.

D. Unit Analisis

Unit analisis adalah satuan tertentu yang diperhitungkan sebagai subjek penelitian. Dalam penelitian ini, unit analisis adalah setiap ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang menjadi subjek pengamatan untuk menilai pengaruh ekstrak daun kamboja sebagai larvasida alami.

Setiap unit analisis (larva) diamati dan dicatat statusnya (hidup/mati) pada waktu yang telah ditentukan yaitu 6 jam setelah pemberian perlakuan. Data yang diperoleh dari setiap unit analisis digunakan untuk menghitung persentase kematian dan menganalisis masing-masing konsentrasi ekstrak menggunakan uji statistik.

1. Penentuan jumlah pengulangan

Menurut Roscoe, penelitian dengan desain eksperimen maupun komparatif idealnya menggunakan minimal 30 sampel. Jumlah tersebut dianggap cukup untuk memperoleh data yang valid, reliabel, serta mampu menggambarkan perbedaan atau pengaruh yang diteliti secara lebih akurat (Samir Kumar Praharaj, 2024).

Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok, yaitu 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Oleh karena itu, untuk mendapatkan 30 sampel data, maka dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali, jadi $5 \text{ kelompok} \times 6 \text{ pengulangan} = 30$ sampel data. Setiap kelompok menggunakan 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, jadi $5 \text{ kelompok} \times 6 \text{ pengulangan} \times 25 \text{ ekor larva} = 750$ ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

2. Teknik Pengambilan Sampel

a. Alat

- 1) Alat yang digunakan untuk tahap persiapan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III terdiri dari ember berwarna gelap, potongan bambu, pipet tetes, wadah nampan plastik.
- 2) Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun kamboja terdiri dari blender, timbangan, wadah ekstraksi/toples besar dengan tutup, batang pengaduk, gelas ukur, saringan, kasa saring atau kertas saring, botol penampung hasil ekstraksi.

3) Alat yang digunakan untuk uji ekstrak daun kamboja terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* terdiri dari gelas plastik, gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur.

b. Bahan

1) Bahan yang digunakan untuk tahap persiapan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III terdiri dari air bersih, daun kering, pakan larva.

2) Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun kamboja terdiri dari daun kamboja segar, dan aquadest.

3) Bahan yang digunakan untuk uji ekstrak daun kamboja terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* terdiri dari ekstrak daun kamboja, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, air sumur gali.

c. Cara kerja

1) Tahap persiapan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III

a) Ember berwarna gelap diisi air bersih $\pm 3/4$ volume wadah dan ditambahkan sedikit rendaman daun kering sebagai atraktan.

b) Potongan bambu dimasukkan secara miring dengan sebagian permukaan berada di atas air sebagai media peletakan telur nyamuk.

c) Ovitap diletakkan di tempat teduh, lembap, dan terhindar dari sinar matahari selama 3-5 hari.

d) Setelah pemasangan ovitrap, bambu diambil dan diperiksa. Telur nyamuk tampak sebagai titik-titik kecil berwarna gelap pada permukaan bambu, kemudian bambu digunakan sebagai sumber penetasan.

e) Bambu yang mengandung telur dimasukkan ke dalam wadah nampan plastik yang berisi air bersih hingga bagian telur terendam dan dibiarkan selama 24–48 jam hingga menetas menjadi larva instar I.

- f) Larva dipindahkan ke wadah nampan plastik yang berisi air bersih dan diberi pakan secukupnya setiap hari, dengan menjaga kondisi air tetap bersih dan kepadatan tidak terlalu tinggi.
 - g) Larva diamati hingga mencapai instar III ($\pm 3-5$ hari), ditandai dengan ukuran lebih besar dan gerakan aktif. Larva yang digunakan dalam penelitian adalah larva instar III yang diidentifikasi sebagai *Aedes aegypti* berdasarkan ciri morfologi, yaitu tubuh memanjang, bergerak aktif, posisi menggantung miring di permukaan air, serta memiliki *siphon* pernapasan yang pendek dan tebal pada ujung abdomen.
- 2) Pembuatan ekstrak daun kamboja
- a) Daun kamboja dicuci sampai bersih agar kotoran seperti debu yang menempel pada daun kamboja tersebut hilang.
 - b) Potong daun kamboja menjadi beberapa bagian agar memudahkan proses pengeringan dan penghalusan.
 - c) Daun kamboja dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung.
 - d) Daun kamboja yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dengan cara di blender agar ukurannya menjadi lebih kecil sehingga dapat memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Kemudian lakukan pengayakan serbuk daun kamboja.
 - e) Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut aquadest, dengan cara timbang 100 gram serbuk daun kamboja dan ukur pelarut aquadest sebanyak 700 ml menggunakan perbandingan 1:7.

- f) Masukkan serbuk daun kamboja ke dalam wadah ekstraksi dan tambahkan 700 ml pelarut aquadest atau hingga semua serbuk daun kamboja terendam pelarut. Kemudian aduk menggunakan batang pengaduk.
- g) Tutup rapat wadah ekstraksi yang digunakan dan disimpan di ruang gelap.
- h) Lakukan proses perendaman selama 7 hari, dengan pengadukan setiap harinya.
- i) Pisahkan filtrat dengan residu dengan cara menyaring sampel dengan kasa saring, kemudian saring dengan kertas saring.
- j) Simpan filtrat yang dihasilkan dalam botol gelap.

3) Penyiapan larutan stok

Penyiapan larutan stok dilakukan dengan cara mengeluarkan ekstrak daun kamboja yang telah tersimpan di dalam lemari pendingin, kemudian dibiarkan selama kurang lebih 15-20 menit pada suhu ruang dan dianggap memiliki konsentrasi 100%.

4) Penyiapan larutan perlakuan

Pembuatan larutan perlakuan dalam penelitian ini dengan cara mengencerkan larutan stok dengan menggunakan rumus pengenceran, campuran air dengan ekstrak daun kamboja dalam 4 konsentrasi yaitu 0,16%, 0,32%, 0,64%, dan 1,28%.

Rumus pembuatan konsentrasi sebagai berikut:

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

Dimana:

M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak daun kamboja

M2 : Konsentrasi larutan ekstrak daun kamboja yang diinginkan

V1 : Volume larutan yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan

a) Konsentrasi 0,16% dengan perhitungan:

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

$$100 \times V1 = 0,16 \times 200$$

$$100 \times V1 = 32$$

$$V1 = 32/100$$

$$V1 = 0,32 \text{ ml}$$

0,32 ml ekstrak daun kamboja dicampur dengan 199,68 ml air untuk mendapatkan konsentrasi 0,16%.

b) Konsentrasi 0,32% dengan perhitungan:

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

$$100 \times V1 = 0,32 \times 200$$

$$100 \times V1 = 64$$

$$V1 = 64/100$$

$$V1 = 0,64 \text{ ml}$$

0,64 ml ekstrak daun kamboja dicampur dengan 199,36 ml air untuk mendapatkan konsentrasi 0,32%.

c) Konsentrasi 0,64% dengan perhitungan:

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

$$100 \times V1 = 0,64 \times 200$$

$$100 \times V1 = 128$$

$$V1 = 128/100$$

$$V1 = 1,28 \text{ ml}$$

1,28 ml ekstrak daun kamboja dicampur dengan 198,72 ml air untuk mendapatkan konsentrasi 0,64%.

d) Konsentrasi 1,28% dengan perhitungan:

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

$$100 \times V1 = 1,28 \times 200$$

$$100 \times V1 = 256$$

$$V1 = 256/100$$

$$V1 = 2,56 \text{ ml}$$

2,56 ml ekstrak daun kamboja dicampur dengan 197,44 ml air untuk mendapatkan konsentrasi 1,28%.

5) Pengujian ekstrak daun kamboja terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

- a) Siapkan gelas plastik yang sudah berisi label, masukan ekstrak daun kamboja dalam konsentrasi 0,16%, 0,32%, 0,64%, 1,28%, dan kontrol dengan 200 ml air sumur gali.
- b) Kemudian masukan larva sebanyak 25 ekor pada masing-masing perlakuan.
- c) Tunggu dan lakukan pengamatan setelah 6 jam paparan.
- d) Perlakuan yang sama dilakukan sebanyak 6 kali.
- e) Lakukan pencatatan jumlah kematian larva disetiap perlakuan.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder, yaitu:

a. Data primer

Data primer merujuk pada data yang dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumbernya. Dalam penelitian ini data primer diperoleh dari data

jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III pada setiap perlakuan yang diamati pada interval waktu 6 jam.

b. Data sekunder

Data sekunder dari penelitian ini berasal dari karakteristik larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang digunakan, spesifikasi bahan-bahan yang digunakan (ekstrak daun kamboja, aquadest, air sumur gali), dan literatur yang mendukung penelitian.

2. Cara pengumpulan data

a. Observasi langsung

Pengumpulan data dilakukan melalui observasi langsung terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang telah diberi perlakuan. Pengamatan dilakukan secara visual untuk menentukan status larva (hidup/mati) pada waktu 6 jam paparan.

b. Pencatatan sistematis

Setiap hasil pengamatan dicatat secara sistematis dalam lembar observasi yang telah disiapkan. Pencatatan dilakukan secara real-time pada saat pengamatan berlangsung untuk meminimalisir kesalahan data.

c. Dokumentasi

Proses pengamatan dan hasil penelitian didokumentasikan dengan foto untuk mendukung validitas data yang diperoleh.

3. Instrumen pengumpul data

Instrumen pengumpul data yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Lembar observasi berisi tabel pencatatan yang memuat kolom-kolom untuk mencatat kelompok perlakuan, jumlah larva yang mati setelah 6 jam paparan di setiap pengulangan, rata-rata, persentase kematian larva, suhu dan pH air.

- b. Alat ukur berupa timer atau alarm untuk mengukur waktu paparan.
- c. Alat dokumentasi berupa kamera untuk dokumentasi proses penelitian dan alat tulis untuk pencatatan manual

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang telah diperoleh dari hasil penelitian kemudian diolah dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Editing

Editing adalah tahap awal pengolahan data dimana peneliti memeriksa data yang telah diperoleh dari lapangan untuk memastikan kebenaran dan kelengkapannya. Apabila ditemukan kekeliruan atau kekurangan, data tersebut segera diperbaiki atau dilengkapi sebelum masuk ke tahap analisis.

b. Coding

Coding adalah tahapan setelah data selesai diperiksa, yaitu melakukan pengkodean. Pada tahap ini, data yang semula berbentuk kalimat atau huruf diubah menjadi simbol atau angka agar lebih mudah diproses.

c. Entry

Entry adalah proses memasukkan data yang telah diberi kode ke dalam aplikasi atau program komputer yang digunakan untuk pengolahan data.

d. Tabulating

Tabulating adalah proses menyusun data ke dalam bentuk tabel sesuai dengan tujuan penelitian dan kebutuhan analisis.

e. *Analyzing*

Analyzing adalah tahap menganalisis data yang telah disajikan dalam bentuk tabel untuk menarik makna dan kesimpulan sesuai dengan maksud dan tujuan penelitian.

2. Analisis data

a. Univariat

Analisis univariat adalah teknik statistik yang berfokus pada penggambaran dan pemahaman karakteristik suatu variabel secara tunggal, tanpa melihat keterkaitannya dengan variabel lain. Analisis univariat dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui distribusi dari masing-masing variabel, seperti:

1) Daya bunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*

Untuk menggambarkan tingkat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan pengukuran persentase kematian menggunakan rumus, sebagai berikut:

$$\text{Persentase kematian} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah total larva uji}} \times 100\%$$

2) Konsentrasi ekstrak daun kamboja

Untuk menggambarkan variasi konsentrasi ekstrak daun kamboja yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0,16%, 0,32%, 0,64%, dan 1,28%.

b. Bivariat

Analisis bivariat merupakan metode statistik yang digunakan untuk melihat hubungan atau keterkaitan antara dua variabel. Analisis bivariat dalam penelitian ini, yaitu hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan daya bunuh larva, melakukan uji korelasi untuk mengetahui kekuatan dan arah hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan daya bunuh larva.

Data diuji terlebih dahulu dengan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data, kemudian dilakukan uji Homogenitas. Jika data berdistribusi dengan normal dan homogen akan dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* dengan uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD*. Apabila data tidak berdistribusi dengan normal maka akan dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis* dengan uji lanjut *Mann-Whitney U Test*.

G. Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menjunjung tinggi prinsip-prinsip etika penelitian, yang mencakup hal-hal berikut:

1. Menghormati individu (*Respect for person*)

Peneliti menghargai martabat setiap individu yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian. Meskipun objek utama adalah larva nyamuk *Aedes aegypti*, prinsip penghormatan tetap diterapkan kepada petugas laboratorium dan masyarakat penerima manfaat penelitian. Hal ini diwujudkan melalui pemberian informasi yang jelas, menjaga kerahasiaan data, serta memperhatikan aspek keberagaman budaya.

2. Berbuat baik (*Beneficence*)

Penelitian diarahkan untuk memaksimalkan manfaat dan meminimalkan risiko. Berdasarkan kajian literatur, penelitian ini dinilai lebih banyak memberikan dampak positif dibanding potensi kerugiannya. Tujuan utamanya adalah menghasilkan larvasida alami yang aman bagi manusia dan lingkungan, sekaligus mengurangi ketergantungan pada insektisida kimia sintetis. Manfaat yang diharapkan antara lain tersedianya alternatif larvasida ramah lingkungan, pemanfaatan tanaman lokal (daun kamboja) yang mudah dijangkau masyarakat,

dukungan terhadap program pengendalian vektor DBD yang berkelanjutan, dan menekan risiko resistensi nyamuk terhadap bahan kimia.

3. Keadilan (*Justice*)

Prinsip keadilan diwujudkan dengan memastikan perlakuan yang konsisten terhadap semua sampel dan kelompok uji. Larva nyamuk yang digunakan berasal dari sumber yang sama dengan kondisi seragam, sehingga hasil penelitian diperoleh secara objektif. Selain itu, hasil penelitian nantinya dapat diakses dan dimanfaatkan secara setara oleh berbagai pihak tanpa adanya diskriminasi.

4. Tidak merugikan (*Non-maleficence*)

Penelitian ini dirancang agar tidak menimbulkan dampak merugikan terhadap lingkungan maupun masyarakat. Komitmen peneliti meliputi pengelolaan limbah sesuai prosedur aman, penggunaan bahan penelitian dalam kadar yang tidak berbahaya, pelaksanaan kegiatan di laboratorium terkontrol, serta penerapan standar keselamatan kerja dengan penggunaan APD. Upaya pencegahan kontaminasi lingkungan juga dilakukan melalui pengelolaan sampel secara hati-hati dan bertanggung jawab.