

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah analitik dengan desain penelitian *Quasi Experimental* karena eksperimen ini untuk mendapatkan hasil penelitian dengan melakukan eksperimen dalam keadaan yang tidak memungkinkan untuk mengontrol variasi campuran konsentrasi ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam, dan jumlah Larva *Culex sp* yang mati.

2. Desain Penelitian

Jumlah kelompok tunggal sehingga hasil dibandingkan dengan control. Desain penelitian atau rancang bangun adalah *The Static Group Comparison* terdapat dua kelompok yang dipilih sebagai objek penelitian berupa kelompok eksperimen dan satu kelas control yang berjumlah sama. Rancangan ini dapat digambarkan sebagai berikut :

**Tabel III.1
Desain Penelitian**

	Perlakuan	Post test
Kelompok Eksperimental	X	O ₂
Kelompok Kontrol		O ₂

Keterangan :

X : Perlakuan dengan menambah ekstrak campuran Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam

O₂ : Jumlah larva *Culex sp* yang mati setelah diberikan perlakuan dengan rancangan ini, beberapa faktor pengganggu dapat dikontrol walaupun tidak dapat diperhitungkan efeknya. (armada, 2005)

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu penelitian : Februari – Mei 2022
2. Lokasi Penelitian : Laboratorium Entomologi DIII Sanitasi Kampus Magetan

C. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Campuran Ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam Terhadap Kematian Larva *Culex sp* 0%, 5%, 10%, 15%, 20%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah angka kematian Larva *Culex sp*

3. Variabel Pengganggu

Variabel yang mempengaruhi variabel bebas dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah pH air, suhu dan kelembaban.

a. pH air yang terdapat pada media dikendalikan oleh karena itu pengukuran pH pada media penelitian (pH antara 5-7)

b. Suhu dan Kelembaban yang dimaksud didalam air yang terdapat pada media dikendalikan oleh karena itu dilakukan pengukuran suhu pada media penelitian berkisar antara 20 °C – 30 °C sedangkan kelembapan pada saat kelembaban rendah menyebabkan penguapan air dalam tubuh sehingga menyebabkan keringnya cairan pada Larva *Culex sp*

c. Stadium atau instar Larva *Culex sp* dikendalikan dengan *matching* dengan memilih larva yang berumur 3 - 4 hari setelah telur menetas atau pada instar III.

Tabel III.2
Definisi Operasional Variabel yang Diteliti

No	Jenis Variabel	Variabel	Definisi	Kategori	Skala
1.	Variabel bebas	<ul style="list-style-type: none"> - Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (<i>Citrus Aurantifolia</i>) - Daun Nilam (<i>Pogostemon Cablin</i>) yang sudah tua berwarna hijau tua 	<ul style="list-style-type: none"> - Kulit Jeruk Nipis dari limbah warung yang berwarna hijau kekuningan yang sudah di ekstraksi menggunakan metode Destilasi di Laboratorium SMKN 3 Kimia Madiun, Jawa Timur - Daun Nilam yang sudah tua yang mulai berumur 3 bulan siap untuk di ekstraksi menggunakan metode Destilasi di 	Konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20%	Ordinal

			<p>Laboratorium SMKN 3 Kimia Madiun, Jawa Timur</p> <p>- Ekstrak campuran kulit jeruk nipis dan daun nilam dengan konsentrasi 0%,5%,10%,15%,20%</p>		
2.	Variabel Terikat	Kematian Larva <i>Culex sp</i>	Larva <i>Culex sp</i> yang mati karena diberikan berbagai variasi konsentrasi campuran ekstrak kulit jeruk nipis dan daun nilam	Jumlah kematian Larva <i>Culex sp</i> 0,1,2,3, dst sampai 25	Rasio
3.	Variabel Kontrol	Waktu kematian Larva <i>Culex sp</i>	Pengawasan kematian Larva <i>Culex sp</i> selama 24 jam	Setiap 1 jam sekali di catat	Rasio

Tabel III.3
Definisi Operasional Variabel Pengganggu

No	Variabel	Definisi	Kategori	Metode Pengendalian
1.	pH	pH air yang terdapat pada media dikendalikan oleh karena itu pengukuran pH pada media penelitian (pH antara 5-7) diukur dengan pH tester	Nilai pH hasil pengukuran	Dilakukan pengukuran pH media penelitian
2.	Suhu dan Kelembapan	Suhu dan Kelembapan yang dimaksud didalam air yang terdapat pada media dikendalikan oleh karena itu dilakukan pengukuran suhu pada media penelitian berkisar antara 20 °C – 30 °C dan diukur menggunakan Thermometer sedangkan kelembapan pada	Nilai suhu dan kelembapan hasil pengukuran	Dilakukan pengukuran suhu dan kelembapan pada media penelitian

		<p>saat kelembaban rendah menyebabkan penguapan air dalam tubuh sehingga menyebabkan keringnya cairan pada Larva <i>Culex sp</i></p>		
3.	<p>Stadium instar Larva <i>Culex sp</i> (instar III)</p>	<p>Instar III berumur 3-4 hari setelah telur menetas</p>	<p>Instar I Instar II Instar III Instar IV</p>	<p>Dilakukan matching dengan cara memilih larva yang berumur kurang dari 1 minggu setelah telur menetas/ pada tahap instar III</p>

D. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah satu jenis larva nyamuk yaitu *Culex sp* yang didapat di Rumah Peneliti di Kelurahan Tawanganom KPR Asabri 1 Magetan.

2. Sampel

a. Besar Sampel

Rumus banyaknya percobaan menurut federer (Tiara Dewi, Muhammad Amir Masruhim, 2016) :

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

Dengan perhitungan sebagai berikut :

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

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

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 19 : 4$$

$$r = 4,75$$

$$r = 5$$

Keterangan :

r = replikasi

t = perlakuan

Jadi replikasi 5 kali, Larva *Culex sp* diletakkan dalam 5 kontainer yang masing-masing kontainer berisi 25 ekor Larva *Culex sp*. Dilakukan replikasi sebanyak 5 kali pada tiap bahan uji, jumlah Larva *Culex sp* sebanyak 625 ekor.

3. Teknik Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *random sampling* terhadap Larva *Culex sp* berusia 3-4 hari atau pada tahap instar III

E. Prosedur Penelitian

1. Pengekstrakan Menggunakan Metode Destilasi di SMKN 3 Kimia

Madiun

a. Alat :

- 1) Pipet volume
- 2) Pipet tetes
- 3) Gelas ukur
- 4) Alat destilasi (destilator)
- 5) Timbangan
- 6) Blender
- 7) Beaker glass
- 8) Erlenmeyer
- 9) Kertas saring

b. Bahan :

- 1) Kulit jeruk nipis
- 2) Daun nilam
- 3) Alkohol 70%

c. Prosedur Kerja :

- 1) Bahan Kulit Jeruk Nipis diperoleh dari warung makan dan Daun Nilam dari Kelurahan Tawanganom KPR Asabri 1 Magetan
- 2) Bahan baku ditimbang dengan berat 1 kg lalu dibersihkan dan dikeringkan
- 3) Setelah kering lalu di bawa ke SMKN 3 Kimia Madiun untuk di destilasi. Proses destilasi sebagai berikut :
 - a) Sampel Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam yang sudah kering kemudian di blender hingga halus dan ditimbang 150 gr Oleh peneliti
 - b) Sampel Kulit Jeruk Nipis dan daun Nilam 150 gr Dimasukkan pada beaker glass volume 2000 ml Kemudian dicampur dengan alkohol 70% sebanyak 1500 ml Dan diaduk sampai homogen

- c) Setelah homogen sampel difermentasi/didiamkan selama 3 hari
- d) Sampel yang telah difermentasi kemudian disaring dengan kertas saring oleh peneliti
- e) Lalu siapkan alat destilasi
- f) Masukkan larutan hasil rendaman Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam yang akan didestilasi kedalam labu destilasi
- g) Alirkan air mengalir sebagai pendingin melalui kondensor
- h) Hidupkan pemanas dengan suhu 78⁰C (titik didih alkohol)
- i) Tampung destilat yang keluar dengan Erlenmeyer
- j) Dilakukan destilasi sampai destilat tidak keluar pada suhu 78⁰C
- k) Diperoleh hasil destilasi masing-masing yang diharapkan 500 ml

Sumber : *SOP sesuai petunjuk praktek pengawasan mutu hasil pertanian SMKN 3 Kimia Madiun*

2. Cara Mencari Telur *Culex sp*

a. Alat :

- 1) Toples bekas

b. Bahan :

- 1) Air comberan
- 2) Irisan Kentang

c. Prosedur Kerja :

- 1) Siapkan toples bekas.
- 2) Isi air dengan air comberan / air kotor
- 3) Tambahkan dengan irisan kentang
- 4) Letakkan pada tempat yang memungkinkan nyamuk bertelur (meletakkan di pojok rumah yang gelap dan dikebun).
- 5) Diamkan selama kurang lebih 1 minggu dengan sering mengamati apakah sudah bertelur atau belum.

- 6) Jika nyamuk sudah bertelur, maka pindahkan telur ke media rearing.
 - 7) Nyamuk *Culex sp* yang sudah bertelur akan meletakkan telurnya diatas permukaan air secara bergerombolan dan bersatu membentuk rakit sehingga mampu mengambang.
3. *Rearing* (penetasan) Telur *Culex sp*
- a. Alat :
 - 1) Wadah
 - 2) Pipet tetes
 - b. Bahan :
 - 1) Telur *Culex sp*
 - 2) Air yang memiliki zat organik yang tinggi (air tajin) dan diberi potongan kentang
 - c. Prosedur Kerja *Rearing* (penetasan) telur *Culex sp* :
 - 1) Telur *Culex sp* didapat dengan cara ditenak menggunakan media wadah yang diisi air yang memiliki zat organik tinggi
 - 2) Pindahkan telur ke media *Breedingpalce* (media perkembangbiakan) secara perlahan-lahan menggunakan pipet tetes
 - 3) Setelah kontak dengan media air *Breedingpalce* (media perkembangbiakan) telur akan menetas menjadi Larva dalam waktu 2 – 4 hari. Pertumbuhan dan perkembangan Larva dipengaruhi oleh faktor temperatur, maka dari itu selama berjalannya penelitian khususnya dalam hal penetasan telur nyamuk harus sangat diperhatikan
 - 4) Beri makan Larva dengan potongan kentang sebanyak 1-2 potong
 - 5) Setelah Larva menetas 3 – 4 hari diidentifikasi di Laboratorium Entomologi Poltekkes Kemenkes Surabaya Prodi DIII Sanitasi Magetan

4. Identifikasi Larva *Culex sp*

a. Alat :

- 1) Mikroskop
- 2) Pipet tetes
- 3) Deckglass
- 4) Preparat
- 5) Bunsen
- 6) Korek api
- 7) Tissue

b. Bahan :

- 1) Larva *Culex sp* instar III
- 2) Air yang memiliki zat organik yang tinggi (air tajin) dan diberi potongan kentang

c. Prosedur Kerja Larva *Culex sp*

- 1) Ambil Larva *Culex sp* instar III menggunakan pipet tetes
- 2) Letakkan Larva Pada preparat dengan posisi lurus
- 3) Keringkan Larva dengan mengambil sisa air disekitarnya memakai pipet dan tissue
- 4) Nyalakan Bunsen, lalu panaskan Larva
- 5) Letakkan deckglass diatas Larva yang sudah dipanaskan
- 6) Identifikasi menggunakan mikroskop

5. Jalannya Penelitian

a. Alat :

- 1) Gelas cup plastik (sebagai container)
- 2) Pipet tetes
- 3) Gelas ukur
- 4) Thermometer
- 5) pH kertas
- 6) Kertas label
- 7) Bullpen
- 8) Stopwatch

9) Formulir pengumpul data primer

b. Bahan :

- 1) Larva *Culex sp* instar III (berusia 3-4 hari dari hasil identifikasi di Laboratorium Poltekkes Kemenkes Surabaya Prodi DIII Sanitasi Magetan)
- 2) Campuran ekstrak kulit jeruk nipis dan daun nilam
- 3) Aquades sebagai media uji efektifitas campuran ekstrak kulit jeruk nipis dan daun nilam terhadap kematian Larva *Culex sp*
- 4) Aquades sebagai control

c. Prosedur Penelitian :

- 1) Cara Pembuatan Campuran Ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam Dengan Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% menggunakan aquades 100 ml dan control negative (-) menggunakan aquades 100 ml yaitu sebagai berikut :

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

Keterangan : (gita ary, 2021)

V1 = Volume ekstrak yang akan diencerkan (ml)

C1 = Konsentrasi ekstrak yang tersedia (%)

V2 = Volume pengencer yang diinginkan (ml)

C2 = Konsentrasi ekstrak yang akan dibuat (%)

a) Konsentrasi 1 (5%)

Kulit Jeruk 2,5% : Daun Nilam 2,5%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 5$$

$$V_1 = 100 \times 5 : 100$$

$$= 5 \text{ ml}$$

Pengencer $100 - 5 \text{ ml} = 95 \text{ ml}$ aquades

5 cup destilasi (Masing-masing cup 2,5 ml Jeruk Nipis dan 2,5 ml Daun Nilam) $= 5 \times 5 = 25 \text{ ml}$

5 cup aquades $= 5 \times 95 = 475 \text{ ml}$

b) Konsentrasi 2 (10%)

Kulit Jeruk 5% : Daun Nilam 5%

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 100 = 100 \times 10$$

$$V1 = 100 \times 10 : 100 \\ = 10 \text{ ml}$$

Pengencer $100 - 10 \text{ ml} = 90 \text{ ml}$ aquades

5 cup destilasi (Masing-masing cup 5 ml Jeruk Nipis dan 5 ml Daun Nilam) $= 5 \times 10 = 50 \text{ ml}$

5 cup aquades $= 5 \times 90 = 450 \text{ ml}$

c) Konsentrasi 3 (15%)

Kulit Jeruk 7,5% : Daun Nilam 7,5%

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 100 = 100 \times 15$$

$$V1 = 100 \times 15 : 100 \\ = 15 \text{ ml}$$

Pengencer $100 - 15 \text{ ml} = 85 \text{ ml}$ aquades

5 cup destilasi (Masing-masing cup 7,5 ml Jeruk Nipis dan 7,5 ml Daun Nilam) $= 5 \times 15 = 75 \text{ ml}$

5 cup aquades $= 5 \times 85 = 425 \text{ ml}$

d) Konsentrasi 4 (20%)

Kulit Jeruk 10% : Daun Nilam 10%

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 100 = 100 \times 20$$

$$V1 = 100 \times 20 : 100 \\ = 20 \text{ ml}$$

Pengencer $100 - 20 \text{ ml} = 80 \text{ ml}$ aquades

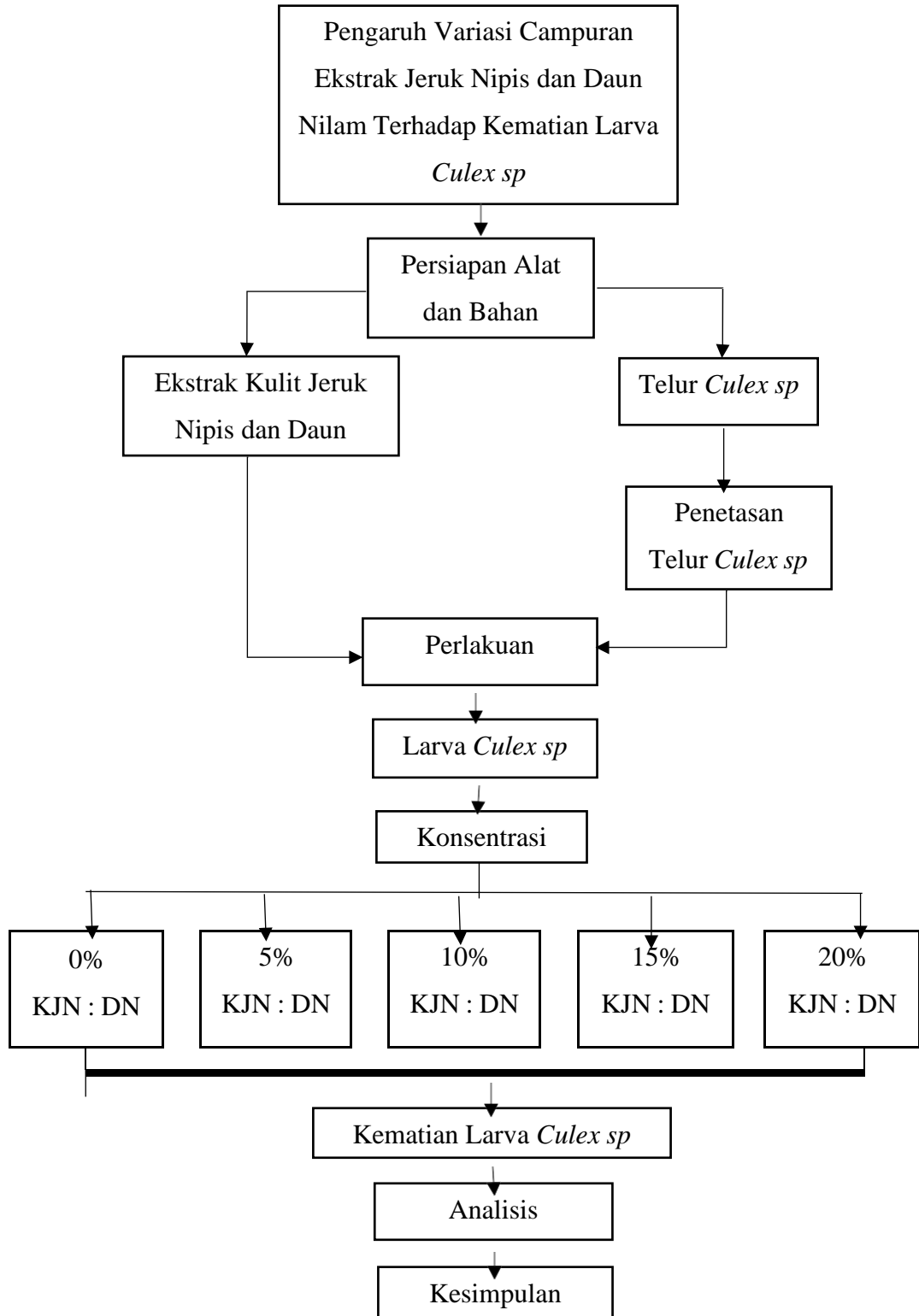
5 cup destilasi (Masing-masing cup 10 ml Jeruk Nipis dan 10 ml Daun Nilam) $= 5 \times 20 = 100 \text{ ml}$

5 cup aquades $= 80 \times 5 = 400 \text{ ml}$

- e) Control negative (-)
5 cup aquades x 100 ml = 500 ml aquades
“Jadi hasil keseluruhan Ekstraksi kulit jeruk nipis membutuhkan 125 ml dan daun nilam membutuhkan 125 ml dan aquades membutuhkan 2.250 ml aquades”
- f) Masing – masing konsentrasi dilakukan replikasi 5 kali sesuai cara diatas
- g) Melakukan pengukuran pH, suhu dan kelembapan.
- h) Melakukan pengamatan 24 jam dan mencatat jumlah Larva *Culex sp* yang mati pada formulir pengumpulan data primer.

6. Alur Penelitian

Skema alur pada penelitian ini adalah :



F. Teknik Pengumpulan Data

1. Data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapat dari jumlah Larva yang mati setelah 24 jam dilakukan pengamatan pada setiap konsentrasi campuran ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam. Data yang dikumpulkan dicatat dalam bentuk tabel.

2. Cara Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati pada setiap kontainer. Perhitungan larva yang mati setelah dilakukan pengamatan 24 jam dan dicatat di dalam bentuk tabel. Larva yang mati akan tenggelam di dasar kontainer, tidak bergerak, meninggalkan larva lain yang dapat bergerak dengan jelas dan berespon terhadap rangsang.

Tabel III.4
Tabel Pengumpulan Data Primer
Penelitian Selama 24 Jam

No	Konsentrasi	Σ Sampel	Σ Larva <i>Culex</i> sp yang mati					Σ	Rata-Rata	%
			I	II	III	IV	V			
1	0% (Kontrol)	125								
2	5%	125								
3	10%	125								
4	15%	125								
5	20%	125								
Jumlah		625								
Rata - rata										

Keterangan :

n : Jumlah Larva *Culex sp* pada setiap container

Σ : Jumlah Larva *Culex sp* yang mati dalam waktu 24 jam

% : Persentase

G. Metode Analisis Data

1. Pengolahan Data

Setelah data terkumpul dari hasil perhitungan, selanjutnya dilakukan pengolahan data :

a. Editing

Meneliti data yang ada telah siap dan baik untuk proses selanjutnya

b. Coding

Melakukan pengkodean pada setiap sampel

Keterangan :

CO = Kontrol (Replikasi pertama)

R1 = Replikasi kedua

R2 = Replikasi ketiga

R3 = Replikasi keempat

R4 = Replikasi kelima

2. Analisis Data

Analisi data menggunakan bantuan aplikasi SPSS 16.0 dengan uji statistic *Anova One Way* untuk menguji hipotesis yang telah ditentukan menurut (Dr. Zainudin, 2002) :

- 1) Tujuan analisis komparasi
- 2) Variasi sampel dengan jumlah >2 dan hubungan bebas
- 3) Skala data interval dan rasio
- 4) Uji statistic parametrik

3. Kesimpulan Penelitian

H_0 ditolak jika p-value lebih < kecil dari alpha ($\alpha=0,05$) atau jika F hitung > F tabel, maka ada pengaruh pemanfaatan campuran ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Daun Nilam terhadap kematian Larva *Culex sp.*