

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain *posttest only control group design*. Subjek penelitian ditentukan dengan cara teknik random sampling.

Penelitian ini dibagi menjadi 9 kelompok, yaitu :

1. Kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan)
2. Kelompok kontrol positif (dietiltoluamid 13%)
3. Kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 7 kelompok dengan ekstrak daun mahkota dewa pada konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, dan 1%.

Mengacu penelitian Rahayu, 2007, masing-masing kelompok terdiri atas 30 ekor nyamuk *Culex sp.* yang digigitkan pada tangan. Setiap perlakuan dilakukan pada 3 tangan, kemudian diamati dan dihitung jumlah nyamuk yang hinggap dan menghisap darah tangan per satuan waktu yang telah ditentukan.

#### B. Populasi dan Sampel Penelitian

Jenis *Culex sp.* yang dijadikan subjek dalam penelitian ini adalah fase nyamuk dewasa betina, nyamuk tersebut telah dilaparkan satu hari sebelum perlakuan. Jumlah nyamuk yang digunakan dalam tiap kelompok adalah

Objek dalam penelitian ini adalah tangan. Perlakuan penelitian berupa penggigitan nyamuk subjek terhadap objek yang telah diolesi dengan bahan uji berupa ekstrak daun mahkota dewa berbagai konsentrasi.

Jumlah total kelompok ada 9 dan replikasi dapat ditetapkan dengan perhitungan menggunakan rumus  $(t-1)(r-1) \geq 15$ , sehingga dari perhitungan diperoleh  $r =$  replikasi sejumlah 3 kali.

### C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan waktu penelitian selama empat bulan.

### D. Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung, variabel terkendali dan variabel tak terkendali.

#### 1. Variabel Bebas

Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan berbagai konsentrasi (100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, dan 1%) sebagai repelen.

#### 2. Variabel Tergantung

- a. Jumlah nyamuk yang hinggap dan menggigit pada tangan dari semua nyamuk uji.

1.  $100\%$ ,  $75\%$ ,  $50\%$ ,  $25\%$ ,  $10\%$ ,  $5\%$ , dan  $1\%$  (Diluent Concentration)  $PT_{100}$ ,  $PT_{75}$ , dan  $PT_{100}$

### 3. Variabel Terkendali

- a. Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah nyamuk *Culex sp* dan objek penelitian ini adalah tangan disertai informed consent berupa lisan dan tulisan. Keduanya melalui proses pemilihan dan pembagian sampel setiap kelompok.
- b. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah nyamuk *Culex sp* betina yang berumur satu minggu (dewasa muda), hasil kolonisasi laboratorium FKIK-UMY, belum pernah digigitkan, dilaparkan selama satu hari sebelum perlakuan dan dengan aktivitas normal.
- c. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah nyamuk yang mati sebelum dilakukan perlakuan dan tangan yang dengan penyakit kulit.
- d. Kondisi lingkungan tempat penelitian pada satu ruangan yang sama.

### 4. Variabel Tak Terkendali

- a. Asal-usul nyamuk *Culex sp* betina dewasa.
- b. Suhu dan kelembaban ruangan.

## E. Definisi Operasional

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, dan 1%. Konsentrasi ini diperoleh dengan cara pengenceran menggunakan aquades.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah  $RC_{50}$ ,  $RC_{90}$ ,  $RC_{95}$ ,  $RT_{50}$ ,  $RT_{90}$ , dan  $RT_{95}$ .

$RC_{50}$  = konsentrasi bahan mempunyai daya repelen 50% dari nyamuk uji

$RC_{90}$  = konsentrasi bahan mempunyai daya repelen 90% dari nyamuk uji.

$RC_{95}$  = konsentrasi bahan mempunyai daya repelen 95% dari nyamuk uji.

$RT_{50}$  = jangka waktu di mana repelen yang digunakan masih mampu menolak 50% dari nyamuk uji.

$RT_{90}$  = jangka waktu di mana repelen yang digunakan masih mampu menolak 90% dari nyamuk uji.

$RT_{95}$  = jangka waktu di mana repelen yang digunakan masih mampu menolak 95% dari nyamuk uji.

Ekstrak 100% = ekstrak kental daun mahkota dewa tanpa pengenceran.

Ekstrak 75% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 25%

Ekstrak 50% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 50%

Ekstrak 25% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 75%

Ekstrak 10% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 90%

Ekstrak 5% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 95%

Ekstrak 1% = ekstrak daun mahkota dewa dengan pengenceran aquades 99%

Periode gigitan nyamuk = waktu pengamatan dan penghitungan nyamuk yang hinggap dan menggigit selama 10 menit pada 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam setelah perlakuan.

## **F. Alat dan Bahan Penelitian**

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi

### 1. Alat :

- a. Sangkar nyamuk ukuran  $34 \times 34 \times 33 \text{ cm}^3$ , perlengkapan pemeliharaan
- b. Ruangan untuk uji repelen
- c. Toples untuk mengembangkan larva
- d. Makanan larva (pelet)
- e. Larutan gula 10% sebagai makanan nyamuk
- f. Aquades steril
- g. Aspirator
- h. Pipet
- i. Penghitung waktu
- j. Sabun
- k. Handuk
- l. Handscoon
- m. Gunting
- n. Penggaris

### 2. Bahan :

- a. Nyamuk *Culex sp.* betina yang telah dilaparkan 1 hari
- b. Ekstrak daun mahkota dewa dengan berbagai konsentrasi (100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, 1%)
- c. Tangan dari bagian pergelangan tangan hingga ujung jari-jari yang sudah dibersihkan
- d. Repelen standar : diethyltoluamid 13% merek Soffell, produksi PT.

## G. Jalannya Penelitian

Ekstrak daun mahkota dewa dengan berbagai konsentrasi, yaitu 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, dan 1% dioleskan pada kulit tangan kemudian tangan dimasukkan ke dalam sangkar nyamuk hingga batas pergelangan tangan. Dihitung jumlah gigitan nyamuk per satuan waktu penolakan. Hasil ini dipengaruhi oleh perilaku tangan, nyamuk *Culex sp.*, lingkungan, cuaca, suhu, dan kelembaban. Jumlah gigitan nyamuk per satuan waktu dari berbagai konsentrasi kemudian dibandingkan dengan hasil pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif.

### 1. Tahap Persiapan, meliputi :

#### a. Persiapan Alat dan Bahan

Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan seperti yang tertera di atas.

#### b. Persiapan Koloni Nyamuk *Culex sp.*

Nyamuk *Culex sp.* diperoleh dari hasil koloni di Laboratorium Parasitologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Larva *Culex sp.* dimasukkan ke dalam panci berisi air. Stadium larva diberi makanan larva (pelet) agar dapat berkembang menjadi stadium pupa dan air yang ada di dalam panci diganti setiap 3 hari sekali. Setelah berkembang menjadi stadium pupa, panci dipindahkan ke dalam sangkar nyamuk. Satu sampai dua hari kemudian pupa akan menjadi nyamuk dewasa dan diberi makan

larutan gula 10%. Satu hari sebelum penelitian nyamuk dilaparkan.

Nyamuk yang digunakan adalah nyamuk *Culex sp* betina.

c. Penyediaan Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Prosedur pembuatan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*).

Daun Mahkota Dewa dicuci dengan air yang mengalir kemudian ditiriskan



Dikeringkan di dalam almari pengering suhu 45 °C selama 48 jam



Diserbuk menggunakan mesin penyerbuk dengan saringan diameter lubang 1 mm



Serbuk Daun Mahkota Dewa



Ditambah ethanol 70 %



Diaduk selama 30 menit



Didiamkan selama 24 jam kemudian disaring



Diulang 3 kali



Ampas



Filtrat



Diuapkan dengan vacuum rotary evaporator pemanas water bath suhu 70°C



Filtrat kental



Dituang dalam cawan porselin panaskan dengan water bath sambil terus diaduk



Ekstrak Daun Mahkota Dewa



Pengenceran dengan aquades

Gambar 1. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Mahkota Dewa

Ekstrak yang sudah ada (konsentrasi 100%) diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan deret konsentrasi yang

dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu 100% 75% 50% 25% 10%

Semua alat yang diperlukan dalam penelitian ini disiapkan dalam satu meja untuk memudahkan jalannya penelitian, sebelumnya alat-alat tersebut dibersihkan dengan air leding.

d. Persiapan Tangan

Masing-masing tangan yang akan digunakan dicuci bersih dengan air sabun, bilas lalu dikeringkan sampai pada bagian pergelangan tangan dibersihkan. Kemudian menggunakan handscoon yang sudah dilubangi pada bagian punggung tangan seluas  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  (Fakhriani, 2007).

2. Tahap Pelaksanaan

Penelitian ini terdiri dari berbagai kelompok, yaitu :

- a. Kelompok kontrol negatif, tanpa diolesi apapun.
- b. Kelompok kontrol positif, diolesi dengan DEET 13%, di sini dipakai merk Soffell yang diproduksi oleh PT. Herlina Indah, Jakarta – Indonesia.
- c. Kelompok perlakuan, diolesi dengan ekstrak daun mahkota dewa berbagai konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, dan 1%. Tangan siap gigit diolesi ekstrak daun mahkota dewa 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, 1% pada punggung tangan bagian handscoon yang telah dilubangi seluas  $5 \times 5 \text{ cm}^2$ . Volume setiap bahan yang dioleskan adalah 175 mikroliter (Yap dkk, 1997).

Pemberian semua perlakuan dilakukan dalam satu waktu.

Masing-masing kelompok dilakukan pada 3 tangan yang berbeda. Bahan



dioleskan dengan tangan ke permukaan punggung tangan yang bebas handscoon secara merata. Setelah diolesi bahan, dimasukkan ke dalam sangkar nyamuk yang telah diisi 30 ekor nyamuk *Culex sp.* betina kemudian setiap tangan diusahakan tidak bergerak-gerak. Tangan berada dalam sangkar nyamuk selama  $\pm 10$  menit pada jam 1, 2, 3, 4, 5, dan 6.

### 3. Pengamatan dan Perhitungan

Pengamatan terhadap jumlah nyamuk yang menggigit dilakukan selama 10 menit pada 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam setelah perlakuan.

Efektivitas ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai repelen terhadap nyamuk *Culex sp.* diukur dengan menggunakan parameter :

- a. Jumlah nyamuk yang hinggap dan menggigit tangan pada kelompok penelitian selama 10 menit pada jam ke 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 pengamatan.
- b. Analisis probit, dengan menghitung  $RC_{50}$ ,  $RC_{90}$ ,  $RC_{95}$ ,  $RT_{50}$ ,  $RT_{90}$ , dan  $RT_{95}$  dari persamaan transformasi probit.

## H. Uji Validitas dan Reliabilitas

### 1. Validitas

Validitas pengukuran dijaga dengan memasukkan sampel secara acak ke dalam sangkar untuk diuji kemudian menggunakan alat pengukur

## 2. Reliabilitas

Reliabilitas dijaga dengan melakukan ulangan atau replikasi sebanyak 3 kali pada tiap pengujian.

### I. Analisis Data

Uji statistik yang digunakan untuk mendapatkan data DT dan DC