

4.3.2 Sampel

Jumlah sampel nyamuk dewasa yang digunakan adalah 25 ekor untuk setiap jenis perlakuan

4.3.3 Estimasi Besar Sampel

Nyamuk dimasukkan dalam kandang sebanyak 25 ekor per kandang dengan menggunakan kriteria nyamuk dewasa *Culex sp.* yang hidup.

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan yang terdiri dari :

1. kontrol (+) yang di *fogging* menggunakan Malathion 0,04 %
2. kontrol (-) yang di *fogging* menggunakan solar
3. Perlakuan yang di *fogging* menggunakan insektisida ekstrak *n-heksan* daun kacang babi dengan konsentrasi 10 %
4. Perlakuan yang di *fogging* menggunakan insektisida ekstrak *n-heksan* daun kacang babi dengan konsentrasi 15 %
5. Perlakuan yang di *fogging* menggunakan insektisida ekstrak *n-heksan* daun kacang babi dengan konsentrasi 20 %

Perkiraan jumlah pengulangan tersebut dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Tjokronegoro, 2001):

- ✓ $p(n-1) \geq 16$
- ✓ $5(n-1) \geq 16$
- ✓ $(n-1) \geq 16/5$
- ✓ $n-1 \geq 3$
- ✓ $n \geq 4$

Keterangan : n = Pengulangan

p = Perlakuan

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Ekstrak *n-heksan* daun kacang babi dari berbagai konsentrasi yang didapat dari studi pendahuluan (dalam %).

4.4.2 Variabel Tergantung

Potensi ekstrak *n-heksan* Daun kacang babi (dalam %) dari berbagai interval waktu pengamatan.

4.5 Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

4.5.1 Peralatan Penelitian

1. Mesin *fogging* (Minifog D-H 99)
2. Kandang nyamuk Silinder (tinggi 30 cm diameter 10 cm)
3. Kandang nyamuk Kubus (1m x 1m x 1m)
4. Gelas ukur
5. Korek api
6. Tabung gas kecil

4.5.2 Bahan Penelitian

1. Ekstrak *n-heksan* daun kacang babi
2. Malathion (0,04 %)
3. Solar

4.6 Definisi Operasional

1. Ektrak daun kacang babi diambil dari tanaman budidaya PT Sampoerna – Pasuruan dengan karakteristik yaitu daun berumur 6 bulan ,berwarna hijau tua dengan ukuran lebih dari 8 cm dengan tanpa adanya lubang pada daun. Setelah melalui proses ekstraksi dan evaporasi, dengan menggunakan

metode ekstraksi *n-heksan* di laboratorium teknik kimia Politeknik Negeri Malang.

2. Nyamuk *Culex sp.* diperoleh dari laboratorium parasit FKUB, identifikasi nyamuk dilakukan ketika dalam bentuk larva. Dengan ciri – ciri : siphon panjang dan langsing, kepala oval atau segi empat, pipih arah dorsoventral, mempunyai satu antena yang pendek, sepasang mata majemuk, tórax terdiri dari tiga segmen, bentuk tidak begitu jelas dan tidak memiliki kaki. Abdomen berbentuk silindris memanjang. Larva yang telah diidentifikasi ditunggu selama satu minggu agar menjadi nyamuk dewasa.
3. Potensi insektisida diperoleh dengan cara menghitung jumlah nyamuk yang mati pada setiap waktu pengamatan yaitu jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-24 dan masing – masing kelompok perlakuan.
4. Digunakan pembanding sebagai kontrol negatif adalah solar, sebagai kontrol positif digunakan Malathion dengan konsentrasi (0,04) %.
5. Nyamuk *Culex sp.* mati adalah nyamuk yang jatuh di dasar kandang dan tidak bergerak.
6. Kandang nyamuk adalah sebuah kandang berbentuk silinder yang terbuat dari kasa, berukuran tinggi 30 cm dengan diameter 10 cm yang kemudian digantung didalam kandang kubus (1m x 1m x 1m).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak *n- heksan* Daun Kacang Babi

- Alat yang digunakan:

1. Oven

2. Timbangan
 3. Gelas Erlenmeyer
 4. Corong gelas
 5. Kertas saring
 6. Labu Evaporator
 7. Labu penampung *n*-heksan
 8. *Evaporator*
 9. Pendingin spiral/*rotary evaporator*
 10. Selang water pump
 11. *Water bath*
- Bahan yang dibutuhkan :
 1. Daun kacang babi
 2. *N-Heksan*
 3. Aquades
 4. Botol hasil ekstrak
 - Proses Ekstraksi
 1. Daun kacang babi (kering) dihaluskan dengan mesin penggiling sampai halus.
 2. Kemudian hasilnya ditimbang sebanyak 100 gr (sampel kering).
 3. 100 gr sampel kering dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
 4. Kemudian direndam dengan *n-heksan* sebanyak 32 ml.
 5. Hasil pencampuran dikocok sampai benar-benar tercampur ($\pm$ 30 menit).
 6. Larutan didiamkan sampai mengendap (selama 1 malam).

7. lapisan atas campuran heksan diambil dengan cara disaring menggunakan kertas saring sampai hanya endapannya saja yang tertinggal.

8. Proses pengulangan perendaman dilakukan sampai 3 kali.

- Proses Evaporasi :

1. Campuran zat yang telah diambil tadi dimasukkan dalam labu evaporasi 1 L.
2. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
3. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
4. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *wáter bath* (atur sampai 90°C) disambungkan dengan aliran listrik.
5. Larutan *n-heksan* dibiarkan hingga memisah dengan zat aktif.
6. Aliran *n-heksan* ditunggu hingga berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 ml.
7. Hasil yang diperoleh kira-kira 1/3 dari bahan alam kering.
8. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik atau kaca dan disimpan dalam *freezer*.

4.7.2 Persiapan Nyamuk *Culex sp.*

Nyamuk *Culex sp.* yang ditangkap diberi makan berupa larutan gula agar nyamuk tetap bertahan hidup.

4.7.3 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian, dilakukan terlebih dahulu penelitian pendahuluan untuk mendapatkan konsentrasi larutan akar tuba yang efektif.

Penelitian pendahuluan ini bersifat trial dan error untuk mendapatkan konsentrasi

efektif. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini adalah 20%, 25%, dan 30%. Dari penelitian pendahuluan ini didapatkan bahwa konsentrasi efektifnya adalah 20%. Konsentrasi efektif ini akan dijadikan dasar dalam menetapkan 3 variasi konsentrasi dalam penelitian.

4.7.4 Pembuatan Konsentrasi Larutan untuk Penelitian

Berdasarkan deret hitung maka 3 variasi konsentrasi ekstrak daun kacang babi yang akan digunakan pada penelitian adalah 10%, 15% dan 20%. Untuk mendapatkan variasi konsentrasi tersebut dari konsentrasi ekstrak awal (100%) maka digunakan rumus pengenceran sebagai berikut. (Ratna dkk, 2009) :

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Keterangan.:

- V1 : Volume sebelum pengenceran
- V2 : Volume sesudah pengenceran
- M1 : Molaritas sebelum pengenceran
- M2 : Molaritas sesudah pengenceran

4.7.4 Cara kerja

1. Penelitian dilakukan dengan menggunakan empat kandang berbentuk silinder berukuran tinggi 30 cm diameter 10 cm berisikan 25 nyamuk digantung di dalam sebuah kandang kubus berukuran 1m x 1m x 1m kemudian diletakkan dalam ruangan dengan temperatur $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ dan tingkat kelembaban antara 60-70%.

2. Kandang kubus di *fogging* dengan menggunakan solar sebagai kontrol negatif dan diamati jumlah nyamuk yang mati pada jam ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-24.
3. Campuran solar dan ekstrak dari masing-masing konsentrasi yang sudah tersedia dimasukkan dalam tabung kaca (100 ml). Lalu isi tabung kaca sejumlah 10 ml di *fogging* ke dalam kandang kubus. Hal ini dilakukan pada masing-masing konsentrasi ekstrak yang telah tersedia dan diamati jumlah nyamuk yang mati pada jam ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-24.
4. Kandang kubus di *fogging* dengan menggunakan *malathion* (0,04) % sebagai kontrol positif dan diamati jumlah nyamuk yang mati pada jam ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-24.
5. Setelah pengulangan pertama selesai peralatan *fogging* dan kandang dicuci dan dibersihkan. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali untuk masing – masing perlakuan.
6. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah pengasapan. Nyamuk dinyatakan mati jika tidak ada pergerakan pada nyamuk ketika dilakukan sentuhan pada nyamuk tersebut.

Prosentasi kemampuan / potensi ekstrak Daun kacang babi sebagai insektisida dihitung dengan menggunakan rumus (Robinson T, 2008) :

$$A1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100 \%$$

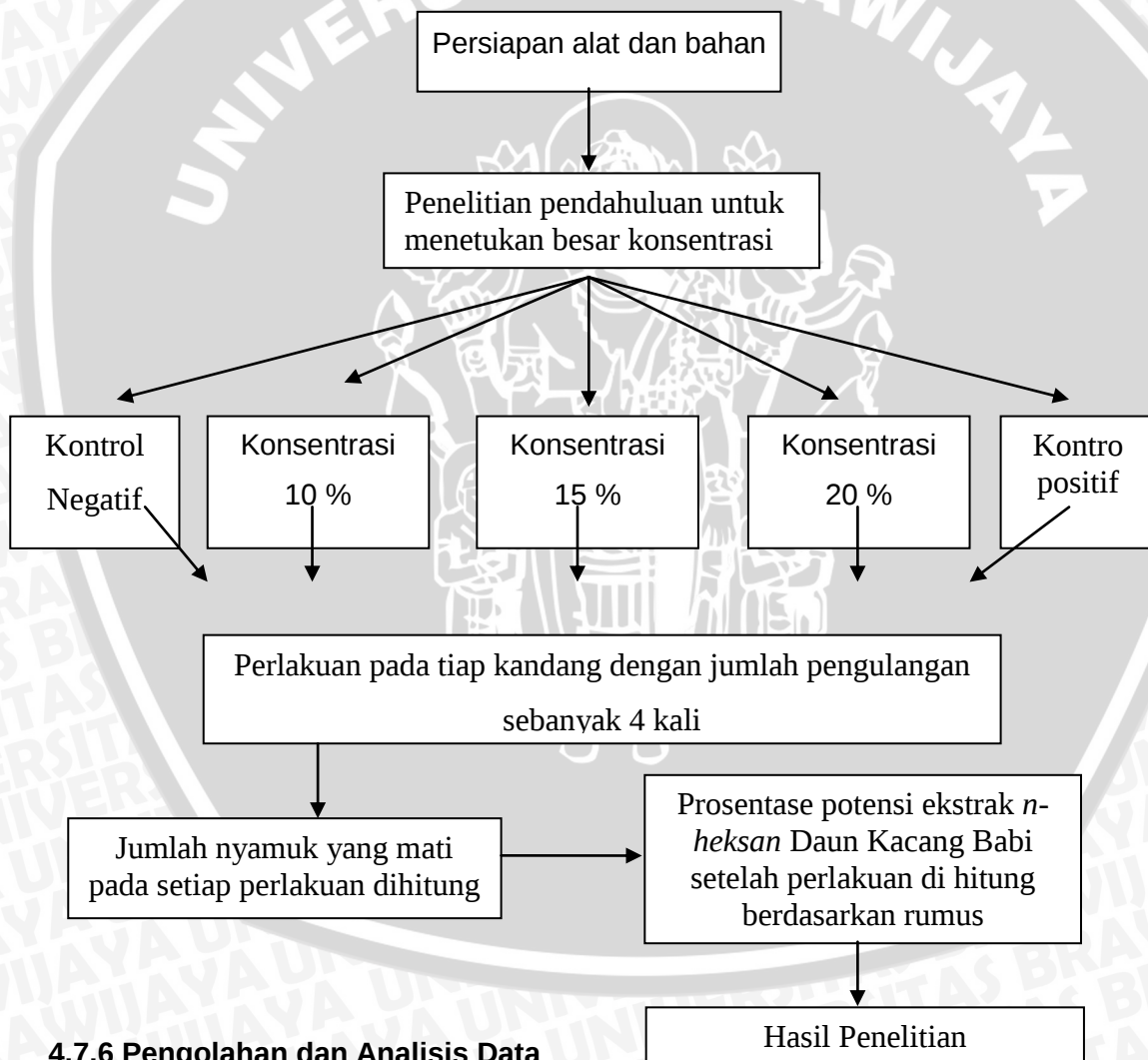
Keterangan :

A1 = Persentase kematian nyamuk setelah koreksi

A = Jumlah kematian nyamuk uji

B = Jumlah kematian nyamuk dengan kontrol negative

4.7.5 Alur penelitian



4.7.6 Pengolahan dan Analisis Data

Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah Uji ANOVA. Uji ini dapat digunakan jika syaratnya :

- Terdapat lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan
- Distribusi data normal
- Varians data homogen
- Jika distribusi data tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan transformasi data
- Jika data hasil transformasi tetap tidak terdistribusi normal atau varians tetap tidak homogen, maka alternatifnya dipilih uji Kruskal Wallis.

Hipotesis ditentukan berdasarkan nilai signifikansi yang diperoleh. Jika nilai signifikansi $>0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak, tetapi bila nilai signifikansi $<0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. H_0 dari penelitian ini adalah tidak terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi dan perbedaan waktu terhadap potensi insektisida. Sedangkan H_1 adalah terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi dan perbedaan waktu terhadap potensi insektisida.

Jika H_1 diterima, maka langkah selanjutnya adalah dengan melakukan uji perbandingan berganda atau *Post Hoc Test* dengan cara *Uji Tukey HSD*, yaitu untuk mengetahui secara lebih rinci pasangan kelompok perlakuan pada setiap waktu pengamatan yang saling berbeda secara signifikan dan yang tidak berbeda secara signifikan.

Analisis selanjutnya adalah analisis Korelasi Pearson. Uji statistik ini untuk menunjukkan keeratan hubungan (korelasi) antara konsentrasi insektisida dengan potensi insektisida pada tiap waktu pengamatan. Seberapa besar pengaruh variasi konsentrasi insektisida dan waktu perlakuan sebagai insektisida terhadap nyamuk

Culex sp. dewasa, dapat diketahui dengan menggunakan analisis bentuk hubungan (regresi), karena uji korelasi belum bisa menjelaskan hal tersebut. Uji regresi menunjukkan nilai koefisien determinasi (R^2) yang menyatakan besarnya pengaruh tersebut dalam bentuk presentase. Sedangkan sisanya ($1-R^2$) ditentukan oleh faktor lain.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

