

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan efek ekstrak daun serai (*Andropogon nardus*) dalam beberapa konsentrasi sebagai insektisida.

4.2 Populasi Dan Sampel

Penelitian ini menggunakan kecoa *Periplaneta sp.* yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut;

- a) Kriteria inklusi; Semua kecoa *Periplaneta sp.* yang hidup dan aktif bergerak.
- b) Kriteria eksklusi; Semua kecoa *Periplaneta sp.* yang tidak aktif bergerak/mati.

Sampel yang digunakan adalah kecoa *Periplaneta sp.* Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif (disemprot dengan aseton 1%), 1 kelompok positif (disemprot dengan Malathion 0,28%) dan menggunakan 3 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun serai dalam konsentrasi yang berbeda. Masing-masing kelompok perlakuan mewakili 1 dosis (konsentrasi) ekstrak dengan jumlah anggota sampel yang sama. Jumlah pengulangan penelitian ditentukan dengan rumus berikut:

$$P(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

P = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan tiap sampel

Dalam penelitian ini diketahui perlakuan (p) = 5, maka pengulangan perlakuan dilakukan :

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

(Lukito, 1998)

Jadi jumlah pengulangan sampel dilakukan minimal 4 kali. Dalam penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan dengan konsentrasi dan larutan stok yang sama.

Rumus untuk estimasi besar sampel yaitu:

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

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

$$3t-3 \geq 15$$

$$3t \geq 18$$

$$t \geq 6$$

Keterangan:

t: jumlah sampel

r: jumlah pengulangan

(Supranto J. 2000)

Jadi jumlah sampel tiap perlakuan minimal 6 ekor kecoa disetiap kandang.

Jadi, berdasarkan rumus di atas, didapatkan jumlah pengulangan yang harus dilakukan adalah sebanyak 4 kali dan jumlah sampel setiap kandang adalah sebanyak 10 ekor kecoa dewasa. Cara pengiraan estimasi besar sampel dijelaskan seperti berikut:

$$\begin{aligned} \text{Besar sampel} &= \text{jumlah sampel setiap kandang} \times \text{jumlah perlakuan} \times \\ &\quad \text{jumlah pengulangan} \\ &= 10 \text{ekor} \times 5 \text{ perlakuan} \times 4 \text{ pengulangan} \\ &= 200 \text{ ekor} \end{aligned}$$

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dimulai pada April 2012 hingga selesainya penelitian yaitu pada Oktober 2013

4.4. Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun serai dengan beberapa konsentrasi

4.4.2 Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah kecoa *Periplaneta sp.* yang mati.

4.4.3 Definisi operasional

- a) Tanaman Serai: Tanaman serai adalah tanaman yang diperoleh dari pengambilan daun serai di Kawasan Rumah Pangan Lestari (KRPL) di Sidoarjo, Jawa Timur.
- b) Ekstrak etanol daun serai : Ekstrak etanol daun serai adalah minyak kental yang didapatkan sebagai hasil dari rangkaian proses ekstraksi dan destilasi daun serai (Gunther, 1987). Sedangkan larutan ekstrak serai adalah ekstrak serai yang dicampur dengan aseton 1% (Sonwa, 2000).
- c) Kecoa dewasa : Berupa kecoa dari jenis *Periplaneta sp* (Munif, 2012) yang diperoleh dari hasil penangkapan di sekitar kawasan Perumahan Sigura-gura 3.
- d) Kontrol negatif : Perlakuan dengan pemberian larutan Aseton 1% (Usha M., 2012) 3,5 ml kerana aseton merupakan pelarut dalam pembuatan Ekstrak etanol daun serai.
- e) Kontrol positif: Perlakuan dengan pemberian Malathion 0,28% sebanyak 3,5 ml. (WHO, 2006).
- f) Potensi insektisida: Kemampuan ekstrak etanol daun serai *Andropogon nardus* dalam mematikan kesemua kecoa yaitu LD100.
- g) Uji potensi: Kemampuan ekstrak etanol daun serai mematikan kecoa dalam waktu jam pertama sampai jam 6 sehingga 24 jam.

4.5 Alat Dan Bahan Uji Potensi Ekstrak Etanol Daun Serai

Alat dan bahan yang diperlukan berupa sprayer dan kertas tulas, kandang berukuran 25cm x 25cm x 25cm, pinset, ekstrak etanol daun serai, kecoa *Periplaneta sp*, malathion 0,28% dan aseton 1 %.

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Ekstraksi dan Evaporasi Ekstrak Etanol Daun Serai

4.6.1.1 Proses Ekstraksi (Gunther, 1987)

Proses ekstraksi ekstrak etanol daun serai dilakukan berdasarkan tatacara pelaksanaan ekstraksi "Technique of Simple Extraction" yang terdapat dalam buku eksperimen kimia organik "*An introduction to Modern Experimental Organic Chemistry*" dengan etanol 96% sebagai pelarutnya.

Dalam proses ekstraksi, daun serai dengan berat kering 500 g dicuci pada air bersih yang mengalir. Setelah dicuci daun serai diiris tipis dan dikeringkan dengan sinaran matahari kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu oven 60-80⁰ C agar daun tersebut menjadi kering sempurna dan dipastikan berat keringnya tetap 500 g.

Setelah kering daun serai tersebut dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya. Serbuk serai dengan berat kering 500 g dimasukkan ke dalam botol 1,5 L untuk direndam dengan etanol 1L selama 1 minggu. Hasil rendaman selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak etanol daun serai dengan pelarut etanol).

4.6.1.2 Proses Evaporasi (Sastrohamidjojo, 2004)

Proses evaporasi bertujuan untuk memisahkan hasil ekstrak yang telah didapat dengan pelarut etanol. Evaporator dipasang pada tiang permanent agar dapat tergantung dengan kemiringan 30⁰ C – 40⁰ C terhadap meja percobaan. Hasil rendaman etanol yang berupa larutan dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendingin spiral dihubungkan pada bagian atas evaporator; pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik; pendingin spiral dihubungkan dengan *water pump* dengan selang plastik.

Water pump ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, *water pump* dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata). Satu set evaporasi diletakkan, sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *water bath*. Vakum dan *water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhu pada *water bath* sekitar 70⁰C (sesuai dengan titik didih etanol).

Sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam. Setelah itu, hasil evaporasi dipanaskan dalam oven dengan suhu 50-60⁰C selama 1-2 hari. Hasil akhir yang berupa minyak kental dan beraroma khas dari daun serai inilah yang akan digunakan dalam percobaan ini.

4.6.2 Cara Pembuatan Larutan Stok (Sonwa, 2000)

Ekstrak pekat daun serai yang tersimpan di *freezer* disesuaikan suhunya dengan suhu kamar dengan cara membiarkan di udara kamar selama 15 menit. Pasta ekstrak daun serai ditumbuk menggunakan mortar sehingga homogen. Hasilnya dicampur dengan campuran pelarut (aseton) sehingga mendapatkan larutan stok dalam aseton 1 %. Pengulangan ekstrak dilakukan dengan dikurangi sehingga mendapat konsentrasi 20%, 30% dan 40%.

4.6.3 Pelaksanaan Penelitian

Aseton 1% ditambahkan untuk pengenceran pertama kali pada larutan stok ekstrak etanol daun serai konsentrasi 100%. (Wang Shu Tong, 2001) Larutan uji diambil dari larutan stok ekstrak etanol daun serai dan disiapkan dalam berbagai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 20%, 30% dan 40 %.

Pembuatan dosis dengan cara pengenceran dari larutan stok 100 % adalah dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan :

- M1 : Konsentrasi larutan stok
M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan
V1 : Volume larutan stok
V2 : Volume larutan perlakuan (Lukito, 1998)

4.6.4 Cara kerja

Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang dan diletakkan di dalam ruang dengan suhu kamar. Ekstrak etanol daun serai (*Andropogon nardus*) dengan dosis 20%, 30% dan 40% dipersiapkan dan dimasukkan ke dalam sprayer. Setelah itu, ekstrak etanol daun serai dengan konsentrasi yang telah ditetapkan di spray ke masing-masing kandang. Setiap kandang akan disemprot dengan:

- Kandang 1 disemprot dengan menggunakan larutan Aseton 1% sebanyak 3,5 ml.
- Kandang 2 disemprot dengan menggunakan malathion 0,28 % sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol positif.
- Kandang 3 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun serai dengan dosis 40 % sebanyak 3,5 ml.
- Kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun serai dengan dosis 30 % sebanyak 3,5 ml.
- Kandang 5 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun serai dengan dosis 20 % sebanyak 3,5 ml.
- Jumlah kecoa yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap 1 jam selama 6 jam dan seterusnya pada jam ke 24.

10 ekor kecoa *periplaneta sp* dimasukkan kedalam masing-masing kandang dan kemudian ditutup menggunakan kain kasa.

Data jumlah kecoa uji yang mati pada berbagai konsentrasi dan berbagai interval waktu pengamatan dianalisis untuk mengetahui besarnya potensi insektisida pada setiap konsentrasi yang berupa persentase kematian kecoa uji setelah dikoreksi dan dihitung menurut Abbott's formula:

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

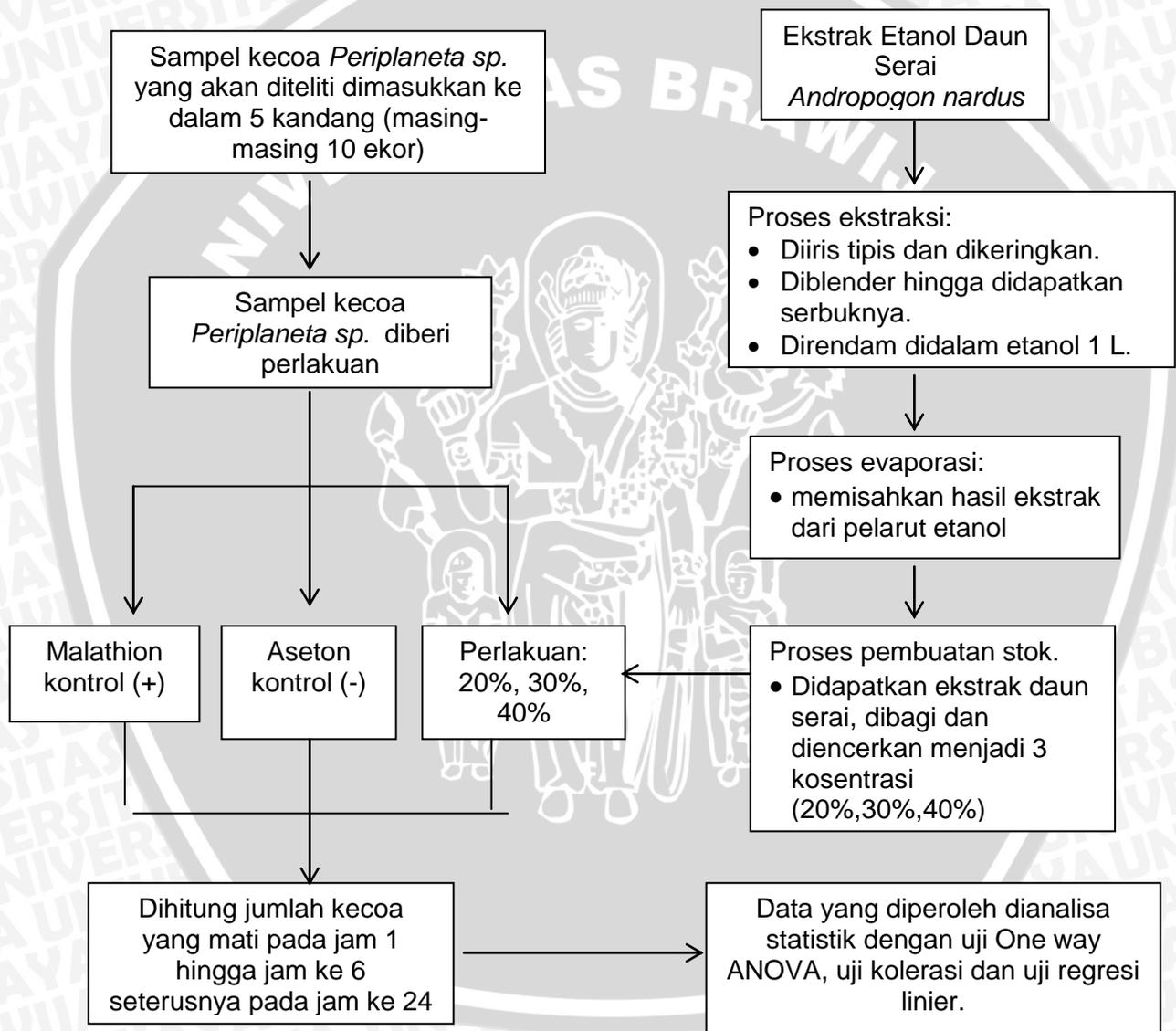
Keterangan:

A1 : persentase kematian kecoa setelah perkiraan (Potensi insektisida)

A : persentase kematian kecoa uji dengan berbagai konsentrasi

B : persentase kematian kecoa kontrol negatif (Lukito, 1998)

4.6.5 Alur Kerja Penelitian



Keterangan:



K (+) : Kontrol positif : Malathion 0,28%

K (-) : kontrol negatif : Aseton 1%

P1 : Konsentrasi 20 %

P2 : Konsentrasi 30 %

P3 : Konsentrasi 40 %

4.7 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimasukkan kedalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah kecoa yang mati, pengulangan, dan konsentrasi. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dilakukan uji statistik fasilitas SPSS 15 dari Windows.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan perhitungan jumlah kecoa yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak etanol daun serai dihitung menggunakan rumus Abbot dan dinyatakan sebagai potensi insektisida. Analisis data dilakukan dengan uji *one-way Anova* jika syarat uji parametrik (sebaran data normal dan data homogen) terpenuhi dan dilanjutkan *Post Hoc Test*.