

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) sebagai insektisida terhadap *Periplaneta sp.*

#### 4.2 Populasi Dan Sampel

Penelitian ini menggunakan kecoa *Periplaneta sp.* yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah:

- semua kecoa yang hidup
- aktif bergerak

Sedangkan kriteria eksklusi yaitu semua kecoa *Periplaneta sp.* yang tidak aktif bergerak/mati sebelum diberi perlakuan.

##### 4.2.1 Perlakuan

Adapun perlakuan yang digunakan adalah:

1. Kontrol positif :  
Larutan Malathion 0.28 % (WHO 2006).
2. Kontrol negatif :  
Aseton 1%
3. Perlakuan I:  
Larutan ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) 30 %.
4. Perlakuan II:  
Larutan ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) 40 %.

#### 5. Perlakuan III:

Larutan ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) 50 %.

#### 4.2.2 Pengulangan

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus

$$p(n-1) \geq 16$$

$$5(n-1) \geq 16$$

$$5n-5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2 \sim 4 \text{ (Loekito, 1998)}$$

keterangan:

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

jadi, berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini minimal adalah 4 kali.

#### 4.2.3 Besar Sampel

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

Jadi jumlah sampel tiap perlakuan minimal 10 ekor kecoa di setiap kandang.

Besar sampel = jumlah sampel setiap kandang x jumlah perlakuan x

jumlah pengulangan

= 10 ekor x 5 perlakuan x 4 pengulangan

= 200 ekor

#### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel Dependent (terikat)

Variabel dependent (variabel terikat) penelitian ini adalah potensi ekstrak ethanol lada hitam (*Piper nigrum*) sebagai insektisida terhadap kecoa *Periplaneta sp.*

##### 4.4.2 Variabel Independent (bebas)

Variabel independent (variabel bebas) adalah konsentrasi ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) (dalam %) dan lama waktu paparan.

#### 4.5 Definisi Operasional

- Lada hitam dapat dibeli dari toko dan pasar untuk pembuatan ekstrak lada hitam.
- Kontrol positif adalah bahan pembanding yang telah terbukti memiliki potensi insektisida. Kontrol positif standar menurut WHO adalah larutan Malathion 0.28 % (WHO 2006).
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut dalam pengenceran ekstrak lada hitam yang dapat memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif aseton 1% karena aseton 1% merupakan emulgator dalam pengenceran ekstrak lada hitam.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak lada hitam dalam mematikan kecoa.
- Uji potensi adalah kemampuan ekstrak lada hitam mematikan kecoa dalam waktu 24 jam.

#### 4.6 Bahan dan Alat Penelitian

##### 4.6.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak lada hitam serta alat-alat yang digunakan untuk uji insektisida *Periplaneta sp.*

##### ❖ Alat Pembuatan Ekstrak Lada Hitam

1. Blender
2. Tabung untuk merendam serbuk kering lada hitam yang sudah diblender.
3. Saringan
4. Kertas saring
5. Gelas ekstraksi (botol)

6. Neraca analitik
7. Klem statis
8. Oven
9. Timbangan
10. Seperangkat alat evaporasi vakum

- *Rotary evaporator*
- Pompa vakum
- Tabung pendingin dan alat pompa sirkulasi air dingin
- Bak penampung air dingin
- Labu penampung hasil evaporasi
- Labu penampung etanol
- Batu didih
- Cawan penguap
- Alat pemanas aquades (*water bath*)
- Pipa plastik
- Alat pembuatan larutan gula

❖ Alat untuk uji insektisida *Periplaneta sp.*

1. Kandang
2. *Spray* / alat penyemprot
3. Pinset
4. *Masker*
5. *Glove*
6. Jam

#### 4.6.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak lada hitam dan bahan uji kemampuan insektisida.

- Bahan Pembuatan Ekstrak Lada Hitam
  1. Lada hitam
  2. Aquades
  3. Etanol 96%
  4. Aseton
- Bahan Uji kemampuan insektisida *Periplaneta sp.*
  1. Kecoa *Periplaneta sp.*
  2. Ekstrak lada hitam dengan 3 konsentrasi
  3. Larutan Malathion
  4. Aquades

#### 4.7 Persiapan Penelitian

##### 4.7.1 Ekstraksi Lada Hitam

- Bubuk lada hitam yang dibeli sebanyak 700 g dimasukkan ke dalam kertas saring, kemudian dimasukkan dalam tabung untuk direndam dengan ethanol.
- Pelarut ethanol dimasukkan ke dalam tabung tersebut sampai serbuk yang ada di dalam kertas saring terendam dalam pelarut ethanol selama kurang lebih 1 minggu.
- Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak lada hitam dengan pelarut ethanol).

#### • 4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Lada Hitam

- Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30 hingga 40 derajat terhadap meja percobaan.
- Hasil rendaman ethanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendinginan spiral dihubungkan dengan vakum melalui selang plastik, dan dihubungkan pula dengan *waterpump* juga melalui selang plastik.
- *Waterpump* ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, kemudian dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata)
- Evaporator diletakkan sedemikian rupa, sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*.
- Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu *waterbath* dinaikkan sehingga 0-10 derajat (sesuai titik didih ethanol).
- Sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam.
- Dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60 derajat selama 1-2 hari.
- Hasil akhir diperoleh ekstrak lada hitam berupa pasta yang berwarna hitam. Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan.
- Setelah didapatkan hasil ekstraksi, selanjutnya dibuat larutan stok ekstrak lada hitam.

#### 4.7.3 Penyiapan sampel

Kecoa *Periplaneta americana* dewasa dimasukkan ke dalam kandang. Masing-masing kelompok coba memiliki 10 kecoa *Periplaneta sp.* dewasa. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sprayer yang telah dilabel dan dilanjutkan dengan menyemprot larutan uji tersebut ke dalam kandang yang tersedia. Kelompok kontrol negatif, yaitu penyemprotan aseton 1% pada kecoa *Periplaneta sp.* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari aseton 1%. Sedangkan kelompok kontrol positif, yaitu penyemprotan Malathion 0,28% sejumlah 3,5 ml pada kecoa *Periplaneta sp.* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari Malathion 0,28%.

#### 4.7.4 Cara kerja

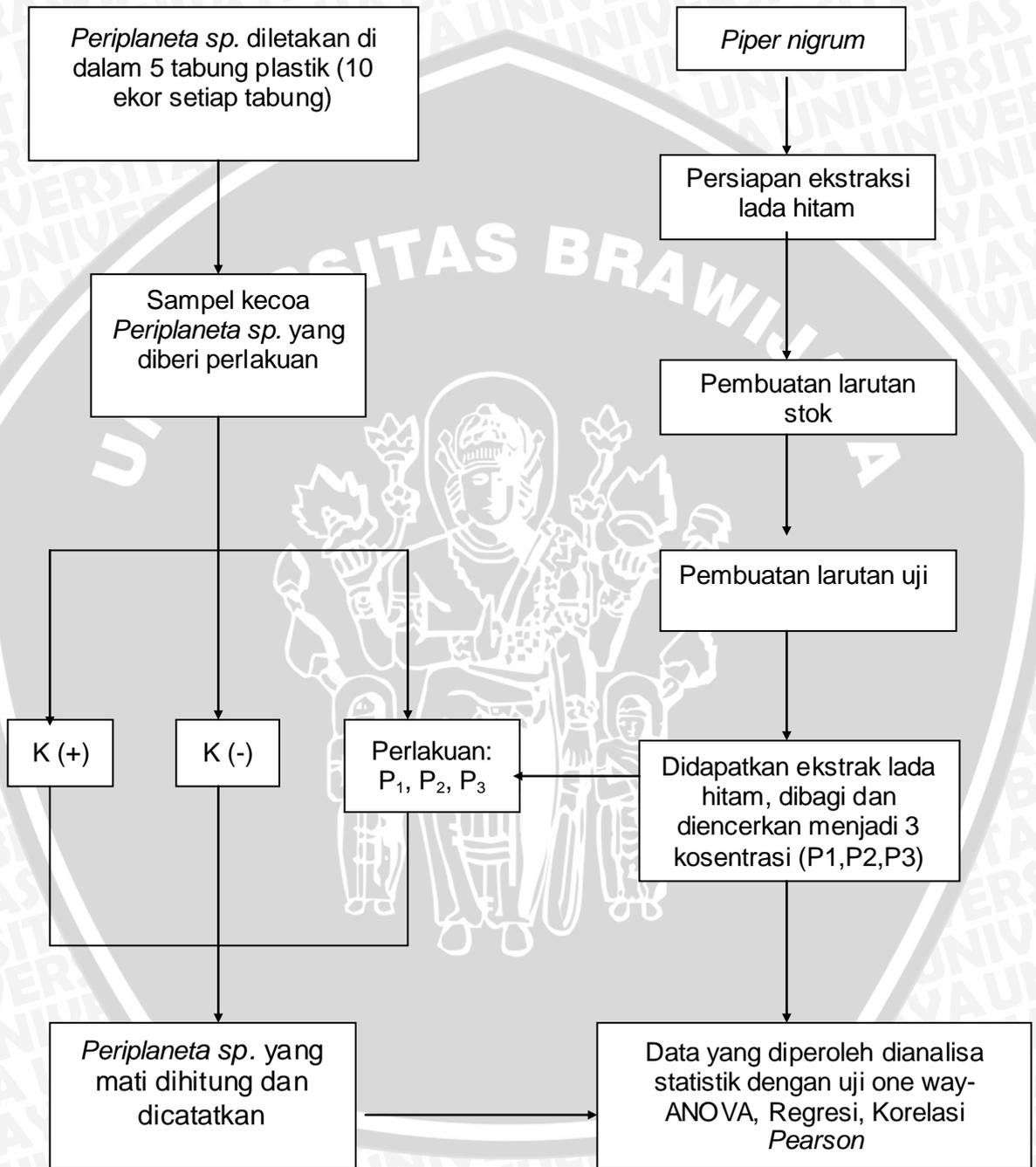
Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang yang berukuran 25cm x 25 cm x 25 cm diletakkan dalam ruang dengan suhu kamar.

- Ekstrak lada hitam dengan dosis 30%, 40% dan 50% dipersiapkan.
- Pada saat akan digunakan ambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, kontrol positif, kontrol negatif) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer.
- Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing-masing kandang sampai habis.
- Pada tiap-tiap kandang disemprot pada ke-enam sisinya masing-masing dengan :
  - a. Kandang 1 menggunakan malathion 0,28 % sebanyak 3,5 ml (sebagai kontrol positif).

- b. Kandang 2 menggunakan aseton 1% sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol negatif
  - c. Kandang 3 menggunakan ekstrak lada hitam dengan dosis 30 % sebanyak 3,5 ml.
  - d. Kandang 4 menggunakan ekstrak lada hitam dengan 40 % sebanyak 3,5 ml.
  - e. Kandang 5 menggunakan ekstrak lada hitam 50 % sebanyak 3,5 ml.
- Jumlah kecoa yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap 1 jam selama 6 jam dan seterusnya pada jam ke 24
  - Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan.



4.7.5 Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Kerja Penelitian

Keterangan:

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

K (-) : kontrol negatif : aseton 1%

P<sub>1</sub> : Konsentrasi 30 %

P<sub>2</sub> : Konsentrasi 40 %

P<sub>3</sub> : Konsentrasi 50 %

#### 4.8 Metode 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.

#### 4.9 Metode Pengukuran Potensi Insektisida

Persentase potensi insektisida ekstrak lada hitam dihitung menggunakan rumus Abbot :

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

Keterangan:

A1 : Persentase kematian kecoa setelah koreksi

A : Persentase kematian kecoa uji

B : Persentase kematian kecoa kontrol negatif

#### 4.10 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan perhitungan jumlah kecoa yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak lada hitam dihitung menggunakan rumus Abbot dan dinyatakan sebagai potensi insektisida. Analisis data dilakukan dengan uji *One-way Anova* dengan syarat berikut:

1. Memeriksa syarat anova untuk lebih dari dua kelompok tidak berpasangan
  - a. Sebaran data harus normal (wajib)
  - b. Varians data harus sama (wajib)
  - c. Observasi adalah independent yaitu nilai suatu observasi tidak berkait dengan nilai yang lain
  - d. Varian setiap kelompok adalah sama dengan kelompok lain

Apabila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan analisis dengan uji *post hoc TUKEY* untuk menguji kelompok mana saja yang memiliki perbedaan nyata. Kemudian dilanjutkan dengan analisis korelasi *Pearson* dan turut dilakukan uji regresi linear.

Hipotesis statistik dalam penelitian ini adalah:

$H_0$  : tidak terdapat potensi pada ekstrak lada hitam sebagai insektisida terhadap kecoa *Periplaneta sp.*

$H_1$  : terdapat potensi pada ekstrak lada hitam sebagai insektisida terhadap kecoa *Periplaneta sp.* Pada konsentrasi yang berbeda.