

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai insektisida terhadap kecoa.

4.2 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dimulai pada tanggal 22 April 2013 dan berakhir pada 20 Mei 2013.

4.3 Populasi dan Besar Sampel

4.3.1 Jumlah Populasi

Pada penelitian ini menggunakan *Periplaneta sp* yang memenuhi kriteria inklusi.

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah:
 - Kecoa yang hidup.
 - Kecoa dewasa yang aktif bergerak
- Kriteria eksklusi penelitian ini adalah:
 - Kecoa yang cacat

4.3.2 Perlakuan

Adapun perlakuan yang digunakan adalah dengan membagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari :

1. Kontrol positif :

Larutan Malathion 0.28 % (WHO 2006).

2. Kontrol negatif :

Aquades (WHO , 2006).

3. Perlakuan I:

Larutan ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) X %.

4. Perlakuan II:

Larutan ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Y %.

5. Perlakuan III:

Larutan ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Z %.

4.3.3 Pengulangan

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4 \text{ (Lukito, 1998)}$$

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.

Jumlah sampel : Pada penelitian ini digunakan sampel kecoa sebanyak 10 ekor x 5 kali perlakuan x 4 pengulangan = 200 ekor

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Dependent (terikat)

Variabel dependent (variabel terikat) penelitian ini adalah jumlah kecoa *Periplaneta sp* dewasa yang mati dan waktu.

4.4.2 Variabel Independent (bebas)

Variabel independent (variabel bebas) adalah konsentrasi ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) (dalam %)

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

❖ Alat Pembuatan Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

1. Blender
2. Tabung untuk merendam serbuk cengkeh 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

❖ Alat Untuk Uji *Insektisida* kecoa *Periplaneta Sp.*

- Kandang berukuran 25 cm x 25 cm x 25cm
- *Spray* / alat penyemprot
- Pinset
- Masker
- Glove

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan bahan uji kemampuan zat insektisida.

- Bahan Pembuatan Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

1. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)
2. Aquades
3. Etanol 96%
4. Aseton

- Bahan uji kemampuan zat insektisida.

1. Ekstrak cengkeh
2. Aquades
3. Kecoa
4. Larutan malathion

4.6 Definisi Operasional

- Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) adalah hasil evaporasi dan ekstraksi Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang berasal dari Kebun Pancursari PT Perkebunan Negara (PTPN) XII Wilayah Malang (Kementerian BUMN, 2012) yang dibuat dengan mengeringkan 1,5 kilogram cengkeh sehingga didapatkan 500gram cengkeh, kemudian dengan menggunakan pelarut etanol 1liter.(Kementerian BUMN, 2012)
- Larutan yang berasal dari ekstraksi cengkeh dianggap memiliki kandungan 100 %.
- *Periplaneta sp* yang digunakan adalah yang dewasa dan bergerak secara aktif. Kecoa didapatkan dari Pasar Burung Malang.

- Kontrol positif adalah bahan pembanding yang telah terbukti memiliki potensi insektisida. Kontrol positif standar menurut WHO adalah larutan Malathion 0.28 %.
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut ekstrak cengkeh yang tidak memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif aquades karena aquades merupakan pelarut dalam pembuatan ekstrak cengkeh.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak cengkeh dalam mematikan kecoa dibanding dengan kontrol positif.
- Untuk setiap konsentrasi yang berbeda, operasional diulang sebanyak 4 kali.

4.7 Persiapan Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Proses ekstraksi Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dilakukan dengan cara maserasi

- Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) diiris kemudian dijemur sampai kering, setelah itu cengkeh yang kering dihaluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.
- 500 gram serbuk cengkeh dimasukkan ke dalam botol lalu direndam dengan etanol.
- Pelarut etanol sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam botol sehingga serbuk yang terbungkus kertas saring terendam dalam pelarut etanol. Larutan dibiarkan sampai rendaman berwarna coklat tua (\pm dua hari).
- Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain.
- Ekstraksi dilakukan dengan beberapa kali penggantian etanol.
- Ekstraksi dihentikan jika etanol dengan tempat menampung serbuk cengkeh sudah jernih (setelah satu minggu).
- Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

- Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40°, dan bawah ke atas yaitu alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik. Selain itu, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan labu penampung hasil penguapan.
- Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali, *rotary evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum semua dinyalakan. Pemanas aquades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut etanol mulai menguap.
- Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum.
- Proses ini ditunggu hingga hasil ekstraksi yang dievaporasi volumenya berkurang dan menjadi kental, ditandai dengan batu pengaduk yang ikut berputar, maka proses dapat dihentikan dan hasil evaporasi diambil.
- Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian dioven pada suhu 50-60°C selama 1-2 menit, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapat hasil Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)
- Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang berupa pasta kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

4.7.3 Cara Pembuatan Larutan Stok

Cairan pelarut ekstrak cengkeh yang digunakan adalah larutan aseton. Larutan stok ekstrak cengkeh dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji. (Wong Shu Tung)

4.7.4 Penyiapan larutan uji

Larutan stok ekstrak cengkeh diencerkan dengan aseton 1% hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak cengkeh

M2 : Konsentrasi larutan ekstrak cengkeh yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan yang diperlukan

Volume akhir larutan perlakuan yang diperlukan untuk setiap konsentrasi adalah 4 ml. Jadi setelah diambil dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan aquades sampai mencapai volume 4 ml (WHO, 2006).

4.7.5 Penyiapan sampel

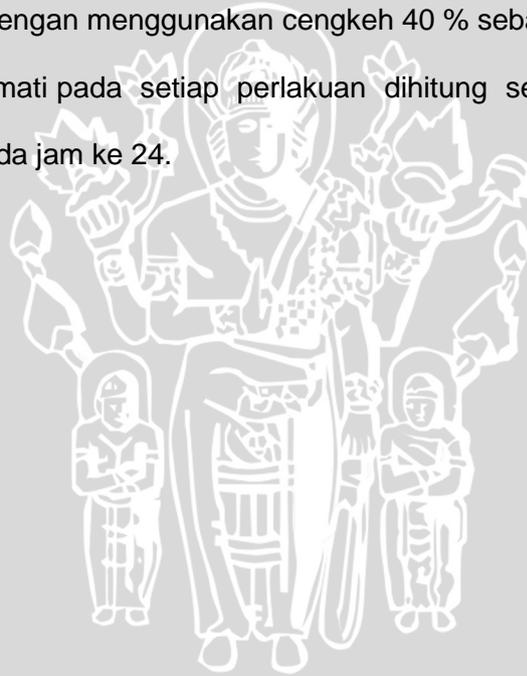
Kecoa *Periplaneta sp* dewasa dimasukkan ke dalam kandang. Setiap kelompok coba memiliki 10 kecoa *Periplaneta sp* dewasa. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sprayer yang telah diberi label dan dilanjutkan dengan menyemprot larutan uji tersebut ke dalam kandang yang tersedia. Kelompok kontrol negatif, yaitu penyemprotan aquades sejumlah 4 ml pada kecoa *Periplaneta sp* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari aquades. Sedangkan kelompok kontrol positif, yaitu penyemprotan Malathion 0,28% sejumlah 4 ml pada kecoa *Periplaneta sp* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari Malathion 0,28%.

4.7.6 Alur Kerja Penelitian Racun Kontak Menurut WHO

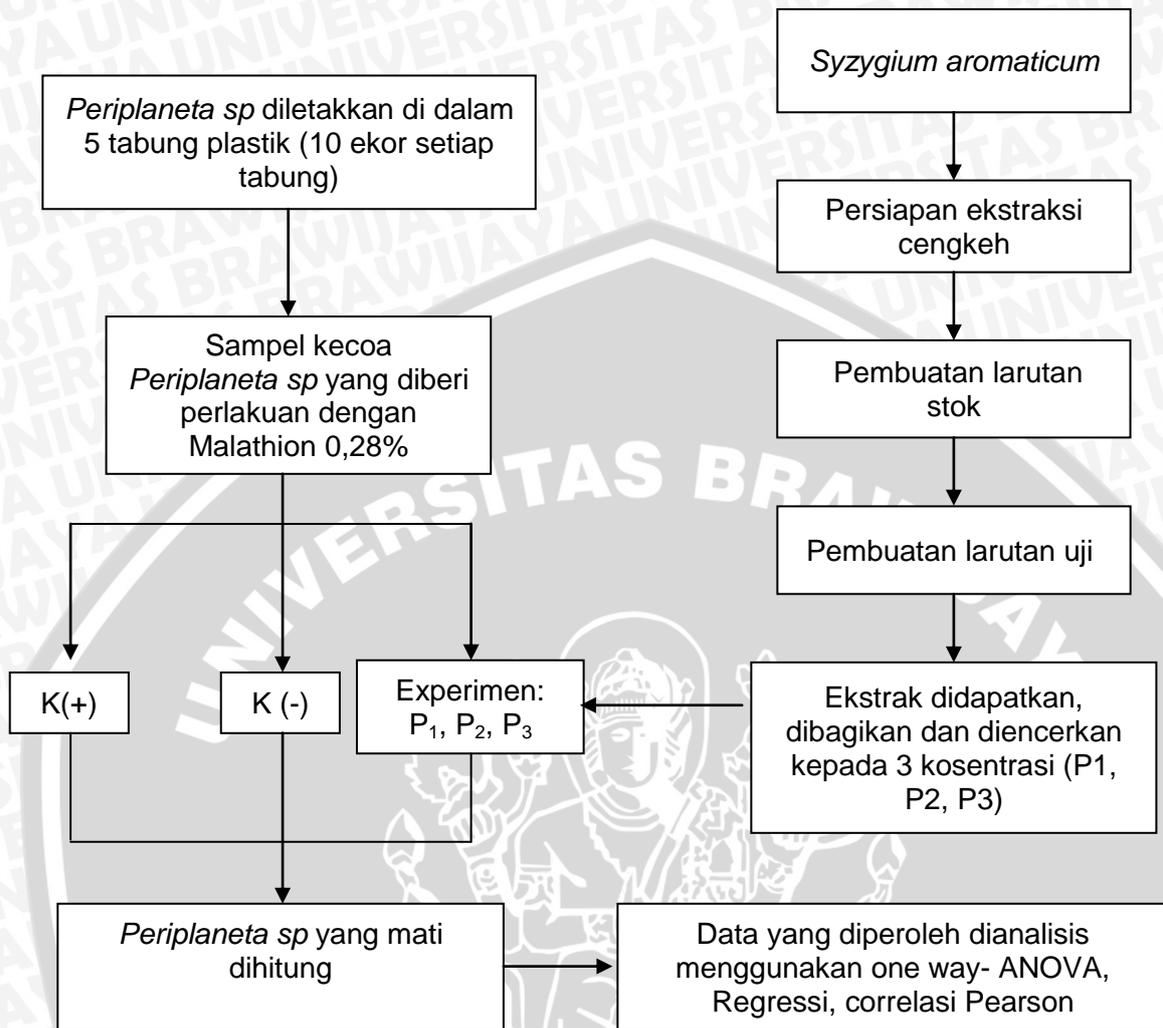
Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kotak kaca berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 cm³ diletakkan dalam ruang dalam suhu kamar.

- a) 10 ekor kecoa *Periplaneta sp* dewasa dimasukkan ke dalam kandang pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol.

- b) Ekstrak cengkeh dengan konsentrasi tertentu dipersiapkan.
- c) Pada saat akan digunakan, ambil secukupnya (untuk setiap konsentrasi, kontrol positif, kontrol negatif) untuk dimasukkan ke dalam setiap sprayer.
- d) Isi sprayer disemprotkan ke dinding setiap kandang sampai habis.
- e) Kandang 1 disemprot dengan menggunakan larutan aquades sejumlah 4 ml (sebagai kontrol negatif).
- f) Kandang 2 disemprot dengan menggunakan Malathion 0,28% sebanyak 4 ml (sebagai kontrol positif).
- g) Kandang 3 disemprot dengan menggunakan ekstrak cengkeh 20 % sebanyak 4 ml.
- h) Kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak cengkeh 30 % sebanyak 4 ml.
- i) Kandang 5 disemprot dengan menggunakan cengkeh 40 % sebanyak 4 ml.
- j) Jumlah kecoa yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap 1 jam selama 6 jam dan selanjutnya pada jam ke 24.



Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan



Gambar 4.1 Diagram Alur kerja Penelitian

Keterangan:

- K1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml Malathion 0,28% (kontrol positif)
- P1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 20 %
- P2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 30 %
- P3 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 40 %
- K2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml aquades (kontrol negatif)

Studi pendahuluan telah dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan konsentrasi ekstrak cengkeh yang akan dilakukan. Hasil studi pendahuluan menggunakan konsentrasi ekstrak cengkeh 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Didapatkan dari hasil studi pendahuluan

bahwa konsentrasi ekstrak cengkeh 10 % adalah terlalu rendah dan tidak dapat membunuh kecoa. Jika konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 50 % terlalu tinggi sehingga kurang efektif. Maka, konsentrasi yang telah saya pilih untuk penelitian saya adalah 20 %, 30 % dan 40 %.

4.8 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah persentase kematian kecoa *Periplaneta sp* dewasa setelah 24 jam, pengulangan dan konsentrasi.

4.9 Metode Pengukuran Potensi Insektisida

Persentase potensi insektisida ekstrak cengkeh dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus:

$$A1 = (A - B / 100 - B) \times 100 \%$$

Keterangan:

- A1 : Persentase kematian kecoa setelah koreksi
 A : Persentase kematian kecoa uji
 B : Persentase kematian kecoa kontrol negatif

4.10 Analisis Data Penelitian

Statistik yang digunakan untuk mencari perbedaan antara kelompok dengan lebih dari 2 kelompok adalah *One way ANOVA*, dengan syarat sebagai berikut :

1. Memeriksa syarat anova untuk lebih dari dua kelompok tidak berpasangan
 - a. Sebaran data harus normal (wajib) - dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan *kolmogorov smirnov test*.
 - b. Varian data harus sama (wajib) - data yang diperoleh dari setiap perlakuan dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of*

variance (levene test) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama.

- c. Observasi adalah independent yaitu nilai suatu observasi tidak berkait dengan nilai yang lain
- d. Varians setiap kelompok adalah sama dengan kelompok lain

Data hasil yang telah dikelompokkan dan dimasukkan tabel, diuji kemaknaannya dengan menggunakan *One-way ANOVA*. *Anova* ini untuk menganalisis apakah ada perbedaan persentase kematian kecoa *Periplaneta sp* dewasa antara lebih dari dua kelompok. 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*, dimana analisis untuk melihat kekuatan hubungan antara 2 variabel, yaitu konsentrasi larutan ekstrak cengkeh dengan jumlah kematian kecoa. Selain itu, turut dilakukan uji regresi linear. Untuk uji analisis *One – way ANOVA*, uji analisis *post hoc (LSD test)*, uji korelasi *Pearson* menggunakan fasilitas SPSS 15 untuk Windows.

