

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium, dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak *n – heksan* daun salam sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp.*

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut :

- Nyamuk dewasa *Culex sp* hidup yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi FKUB, dengan cara mengembangbiakkan dari stadium larva.
- Nyamuk aktif bergerak.

Sampel diambil sejumlah nyamuk *Culex sp* yang memenuhi kriteria inklusi dan telah diseleksi.

Pada penelitian ini terdiri dari lima kelompok yaitu :

1. Kontrol negatif : larutan aquades steril
2. Kontrol positif : malathion 0,28%
3. Perlakuan I : larutan ekstrak daun salam sebesar 5 %
4. Perlakuan II : larutan ekstrak daun salam sebesar 12,5 %
5. Perlakuan III : larutan ekstrak daun salam sebesar 20 %

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus:

$$(np - 1) - (p - 1) \geq p^2$$

$$(3n - 1) - 2 \geq 9$$

$$3n \geq 12$$

$$n \geq 4 \quad (\text{Rangga, 2007})$$

Keterangan :

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan setiap perlakuan

Jadi berdasarkan rumus diatas, pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini minimal adalah 4 kali.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan dilaksanakan 11 Juni 2013 – 1 Agustus 2013.

4.4 Variabel Penelitian

- Variabel independent atau bebas adalah potensi ekstrak *n – heksan* daun salam 5%, 12,5 %, 20%
- Variabel dependent atau tergantung adalah jumlah nyamuk *Culex sp.* yang mati setelah disemprot dengan ekstrak *n – heksan* daun salam.

4.5 Bahan dan Instrumental Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

- Daun Salam
- N - heksan
- Aquades

4.5.2 Bahan Uji Kemampuan *Insektisida* terhadap Nyamuk *Culex sp.*

- Nyamuk *Culex sp.*
- Ekstrak daun salam
- Malathion 0,28%
- Aquades steril

4.5.3 Instrumen Penelitian

4.5.3.1 Instrumen Pembuatan Ekstrak Daun Salam

- Blender
- Tabung untuk merendam serbuk kering daun salam yang sudah diblender
- Saringan
- Kertas saring
- Gelas ekstraksi (botol)
- Neraca analitik
- Klem statis
- Oven
- Timbangan
- Satu set alat evaporasi

4.5.3.2 Instrumen Untuk Mengetahui Potensi Ekstrak Daun Salam

- Kotak nyamuk 25x25x25 cm^3
- Kapas

4.6 Definisi Operasional

1. Potensi insektisida adalah rerata jumlah kematian nyamuk yang dihitung berdasarkan rumus persentase insektisida abbott.
2. Ekstrak *n – heksan* daun salam yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dari daun salam yang masih muda dan diproses di Laboratorium Politeknik Universitas Brawijaya Malang.
3. Nyamuk *Culex sp.* yang diperoleh di Laboratorium Parasitologi FKUB dari perkembangbiakan larva *Culex sp.*

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstraksi *n – Heksan* Daun salam

Prosesnya meliputi ekstraksi dan evaporasi daun salam yang hasil ekstraksinya akan digunakan dalam proses penelitian selanjutnya, yaitu aktivitas ekstrak *n – heksan* daun salam sebagai insektisida nyamuk *Culex sp.*

Proses ekstraksi:

- Daun salam sebanyak 500 gram dikeringkan dengan sinar matahari secara tidak langsung atau diangin-anginkan kemudian dimasukkan oven agar daun salam tersebut menjadi kering secara sempurna dengan suhu oven 60-80 °C

- Setelah kering, daun salam diblender sehingga didapatkan serbuk kering seberat 150 gram dan ditimbang menggunakan neraca analitik.
- Serbuk daun salam dimasukkan kertas saring, dimasukkan ke dalam tabung untuk direndam dengan *n* – heksan.
- *N* – heksan dipanaskan terlebih dahulu pada titik didih 70-80 °C.
- Pelarut *n* - heksan dimasukkan ke dalam tabung tersebut sampai serbuk yang ada di dalam kertas saring terendam dalam pelarut *n* – heksan selama kurang lebih 3-4 hari.
- Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak daun salam dengan pelarut *n* – heksan), dan hasilnya didapat dalam bentuk pasta sebanyak 17 ml.

Poses Evaporasi:

- Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40°, dan dibawah ke atas yaitu alat pemanas, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin. Tabung pendingin terhubung dengan pompa vakum dan labu penampung hasil penguapan.
- Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstrak, kemudian dirangkai kembali, *rotatory evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum semua dinyalakan. Pemanas aquades dinyalakan pula sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut *n* – heksan mulai menguap.
- Hasil penguapan *n* – heksan akan dikondensasikan menuju labu penampung *n* – heksan 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-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 jam, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapatkan hasil ekstrak *n* – *heksan* daun salam 100%.
- Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan

4.7.2. Aklimasi

Untuk proses aklimatisasi, nyamuk *Culex sp* dewasa dipuasakan selama 4 jam.

4.8 Cara Kerja Penelitian

Sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan untuk mencari konsentrasi yang diinginkan dari ekstrak *n* – *heksan* daun salam. Cara kerja penelitian yaitu :

1. Percobaan dilakukan dengan menggunakan kotak berbentuk bujur sangkar dengan ukuran $25 \times 25 \times 25 \text{ cm}^3$ yang ditutup mika pada 2 sisinya dan ditutup kain atau kelambu pada 4 sisinya, kemudian diletakkan dalam ruangan dengan temperatur ruang $27 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ dan tingkat kelembaban antara 60-70%.
2. Ekstrak *n* – *heksan* daun salam dipersiapkan.

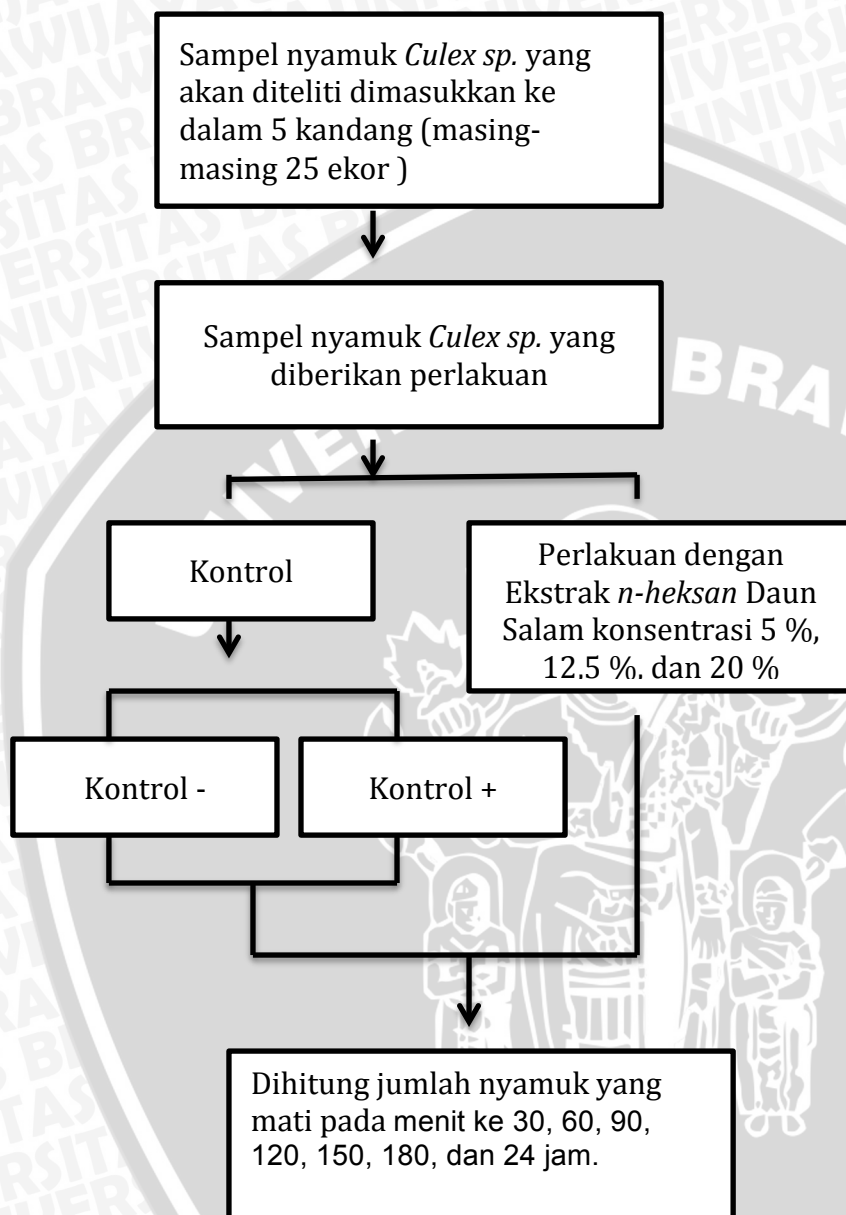
3. Disiapkan 5 kotak yang telah diisi dengan 500 ekor nyamuk *Culex sp.* Dewasa pada setiap kotak yang telah dipuasakan 4 jam.
4. I penyemprotan aquades sebagai control negatif,
II penyemprotan malathion 0,28% sebagai kontrol positif
III penyemprotan daun salam 5% , IV penyemprotan daun salam 12,5 %, V penyemprotan daun salam 20 %. Dihitung nyamuk yang mati selama menit ke 30, 60, 90, 120, 150, 180, dan 24 jam.
5. Presentase kemampuan ekstrak *n – heksan* daun salam sebagai insektisida dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan :

- AI= persentase kematian nyamuk setelah koreksi
 - B = jumlah nyamuk yang mati pada control negatif
 - A = jumlah nyamuk yang mati pada larutan ekstrak daun salam.
8. Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan. Hasil yang didapat kemudian dicatat.

4.9 Diagram Alur Penelitian



4.10 Analisa Data

Analisa data yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah uji normalitas, uji *One-way ANOVA* (*One-way Analysis of Variance*), dan uji korelasi dan regresi.