

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 etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai insektisida nyamuk *Culex sp.*

4.2 Sampel dan Estimasi Besar Sampel

4.2.1 Jumlah Sampel

Pada penelitian ini menggunakan nyamuk *Culex sp.* yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- Nyamuk *Culex sp.* yang masih hidup
- Nyamuk *Culex sp.* yang aktif bergerak dan terbang

Besar sampel berdasarkan jumlah total nyamuk dalam satu kandang, jumlah total kelompok, dan jumlah total repetisi. Jumlah sampel dalam satu kandang adalah 25. Estimasi repetisi dihitung berdasarkan rumus di bawah ini :

$$p(n-1) > 15$$

$$5(n-1) > 15$$

$$5n-5 > 15$$

$$5n > 20$$

$$n > 4$$

(Tjokronegoro, 2001)

Keterangan :

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

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

4.2.2 Perlakuan

Adapun perlakuan yang digunakan adalah :

1. Kontrol positif

Disemprot dengan Malathion 0,28%

2. Kontrol negatif

Disemprot dengan aquades

3. Perlakuan I

Disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam konsentrasi 30% sebagai insektisida

4. Perlakuan II

Disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam konsentrasi 40% sebagai insektisida

5. Perlakuan III

Disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam konsentrasi 50% sebagai insektisida

Besar sampel = jumlah sampel setiap kandang x jumlah perlakuan x jumlah pengulangan

$$= 25 \times 5 \times 4$$

$$= 500$$

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini kemungkinan akan dimulai pada bulan Juli 2014 hingga selesai.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Dependent (Terikat)

Variabel dependent adalah jumlah nyamuk *Culex sp.* yang mati setelah diberi ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai insektisida dan waktu yang dibutuhkan nyamuk untuk mati dalam waktu jam.

4.4.2 Variabel Independent (Bebas)

Variabel independent adalah konsentrasi ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam persen (%).

4.5 Definisi Operasional

- Ekstrak etanol akar alang-alang : Alang-alang diambil di Balai Materia Medika, Batu, dalam bentuk serbuk. Ekstrak berupa pasta yang diproduksi setelah serbuk kering akar alang-alang direndam dalam

pelarut etanol 90% dan dilakukan evaporasi. Proses ekstraksi serbuk akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dilakukan di Teknik Kimia Polinema, Malang. Konsentrasi ekstrak akar alang-alang yang digunakan 30%, 40%, dan 50% yang didapatkan dari penelitian pendahuluan.

- Nyamuk *Culex sp.* : Mempunyai warna badan coklat kusam dengan ujung abdomen yang tumpul. Postur tubuh *Culex sp.* cenderung mendatar. Sayap *Culex sp* memiliki sisik sempit panjang dengan ujung runcing. Nyamuk diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan berada dalam keadaan kenyang sukrosa
- Nyamuk *Culex sp.* mati : Nyamuk *Culex sp.* yang distimulasi dengan ujung lidi, tidak menunjukkan respons sama sekali
- Efek insektisida ekstrak etanol akar alang-alang : Efek yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol akar alang-alang berupa nyamuk *Culex sp.* yang mati.
- Potensi insektisida : Kemampuan ekstrak etanol akar alang-alang membunuh nyamuk 100% dalam 24 jam. Potensi dihitung dengan menggunakan rumus Abbot seperti berikut (Suwasono, 2004) :

$$A - B$$

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

$$100 - B$$

Keterangan :

A1 = presentase kematian nyamuk setelah dikoreksi / potensi

A = presentase kematian nyamuk dengan berbagai konsentrasi

B = presentase kematian nyamuk dengan kontrol negatif

100 = jumlah nyamuk yang digunakan tiap perlakuan dikalikan pengulangan (25x4)

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat-alat Penelitian

Timbangan analitik, seperangkat alat ekstraksi soklet, gelas kimia 250 ml, botol timbang (cawan petri), penjepit cawan petri, spatula, desikator, timbel, oven, blender, freezer, kandang berukuran 25x25x25 cm, larutan gula 20%, *spray* / alat penyemprot, pinset, timer

4.6.2 Bahan-bahan Penelitian

Ekstrak akar alang-alang (*Imperata cylindria*), nyamuk *Culex sp.*, etanol 90% sebagai pelarut ekstrak, kertas saring, aquades, malathion 0,28%

4.6.3 Persiapan Penelitian

4.6.3.1 Ekstraksi Akar Alang-alang (Poeloengan, 2010)

Proses ekstraksi akar alang-alang dilakukan dengan cara maserasi yaitu menggunakan pelarut etanol. Prosesnya adalah sebagai berikut: akar alang-alang dicuci bersih, kemudian dijemur sampai kering. Setelah itu, akar alang-alang yang sudah kering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender sampai diperoleh bentuk serbuk. Timbang serbuk yang akan diekstrak dengan jumlah tertentu. Setelah itu, masukkan serbuk ke dalam beker gelas dan tuangkan pelarut etanol 90% dengan perbandingan (1 : 3) 1 kg serbuk dalam 3 liter pelarut etanol 90%. Rendam bahan dan diamkan pada suhu kamar selama

minimal 2 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Proses ekstraksi ini dapat dipercepat dengan ultrasonic.

4.6.3.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Akar Alang-alang

Setelah 2 x 24 jam, saring bahan dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 40 dan pelarut yang diperoleh (yang mengandung bahan aktif) dapat dilakukan evaporasi untuk menghilangkan sisa pelarut. Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguapan kemudian dioven pada suhu 50-80°C selama 1-2 menit, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapat hasil ekstrak etanol akar alang-alang 100% yang berbentuk pasta.

4.6.3.3 Penelitian Pendahuluan

Dari proses ekstraksi didapatkan hasil berupa ekstrak akar alang – alang sebanyak 40 ml. Di dalam penelitian pendahuluan ini akan digunakan konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Larutan stok tersebut diencerkan dengan Aquades menggunakan rumus pengenceran :

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

Keterangan :

M1 : Konsentrasi yang diinginkan

M2 : Konsentrasi larutan stok

V1 : Volume yang diinginkan

V2 : Volume larutan stok

Jumlah nyamuk *Culex sp.* yang mati diamati dan dihitung pada jam ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, dan ke-24. Hasil pengamatan jumlah nyamuk mati tersebut digunakan untuk memperkirakan konsentrasi ekstrak yang efektif sebagai insektisida.

4.7 Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Akar Alang – Alang

Di dalam penelitian ini akan digunakan konsentrasi ekstrak 30%, 40%, dan 50% yang didapatkan dari penelitian pendahuluan.

Untuk mendapatkan larutan konsentrasi 30% sebanyak 4 ml maka :

$$30\% \times 4 = 100\% \times V_2$$

$$V_2 = 1,2 \text{ ml}$$

1,2 ml larutan stok diambil lalu ditambahkan aquades sebanyak 2,8 ml.

Untuk mendapatkan larutan konsentrasi 40% sebanyak 4 ml maka :

$$40\% \times 4 = 100\% \times V_2$$

$$V_2 = 1,6 \text{ ml}$$

1,6 ml larutan stok diambil lalu ditambahkan aquades sebanyak 2,4 ml.

Untuk mendapatkan larutan konsentrasi 50% sebanyak 4 ml maka :

$$50\% \times 4 = 100\% \times V_2$$

$$V_2 = 2 \text{ ml}$$

2 ml larutan stok diambil lalu ditambahkan aquades sebanyak 2 ml.

4.8 Cara Kerja Penelitian

1. Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang berdinding kaca dan berbentuk kubus dengan ukuran 25x25x25 cm dan diletakkan di dalam ruang dengan suhu kamar. Di dalam setiap kandang diletakkan larutan gula 20% campuran 20 gram gula yang dilarutkan dalam 100cc air sebagai makanan dan penarik nyamuk

2. Ekstrak etanol akar alang-alang dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50% dipersiapkan
3. 5 botol *sprayer* disiapkan dan masing-masing dimasukkan 4 ml ekstrak etanol akar alang-alang dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50%, aquades (kontrol negatif), dan malathion 0,28% (kontrol positif) ke dalam setiap satu botol *sprayer* tersebut.
4. Perlu diperhatikan bahwa isi botol *sprayer* disemprotkan ke dalam kandang nyamuk sampai habis
5. Kandang 1 disemprot dengan aquades sebanyak 4 ml (sebagai kontrol negatif)
6. Kandang 2 disemprot dengan malathion 0,28% sebanyak 4 ml (sebagai kontrol positif)
7. Kandang 3 disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang 30% sebanyak 4 ml
8. Kandang 4 disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang 40% sebanyak 4 ml
9. Kandang 5 disemprot dengan ekstrak etanol akar alang-alang 50% sebanyak 4 ml
10. Setelah 5 menit, sebanyak 25 ekor nyamuk *Culex sp.* dimasukkan ke dalam setiap kandang
11. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah penyemprotan. Dilakukan setiap interval waktu yaitu pada 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, 6 jam, dan 24 jam
12. Percobaan ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan

13. Potensi ekstrak etanol akar alang-alang sebagai insektisida dilihat dari presentase kematian nyamuk *Culex sp.* dengan menggunakan rumus Abbot

4.9 Perkiraan Tabel Data

Waktu (Jam ke -)	Jumlah nyamuk <i>Culex sp.</i> yang mati				
	Kontrol I Kontrol negatif	Kontrol II Kontrol positif	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
	Aquades	Malathion 0,28%	Ekstrak akar alang-alang 30%	Ekstrak akar alang-alang 40%	Ekstrak akar alang-alang 50%
A					
B					
C					
D					
E					

4.10 Pengolahan Data

Data-data hasil yang telah dikelompokkan dan dimasukkan tabel, diuji kemaknaannya dengan menggunakan uji parametrik *One-way ANOVA*. Anova ini untuk menganalisis apakah ada perbedaan presentase kematian nyamuk *Culex sp.* antara lebih dari dua kelompok.

Syarat-syarat analisis ANOVA :

- Distribusi jumlah nyamuk *Culex sp.* setiap perlakuan adalah normal
- Varian tiap perlakuan adalah homogen

Hipotesis statistik dalm penelitian ini adalah :

H_0 : tidak terdapat perbedaan presentase jumlah kematian nyamuk *Culex sp.* antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol akar alang-alang

dibanding dengan kelompok kontrol yang tidak mendapat pemberian ekstrak etanol akar alang-alang

H_1 : terdapat perbedaan yang signifikan pada presentase jumlah kematian nyamuk *Culex sp.* antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol akar alang-alang dibanding dengan kelompok kontrol yang tidak mendapat pemberian ekstrak etanol akar alang-alang

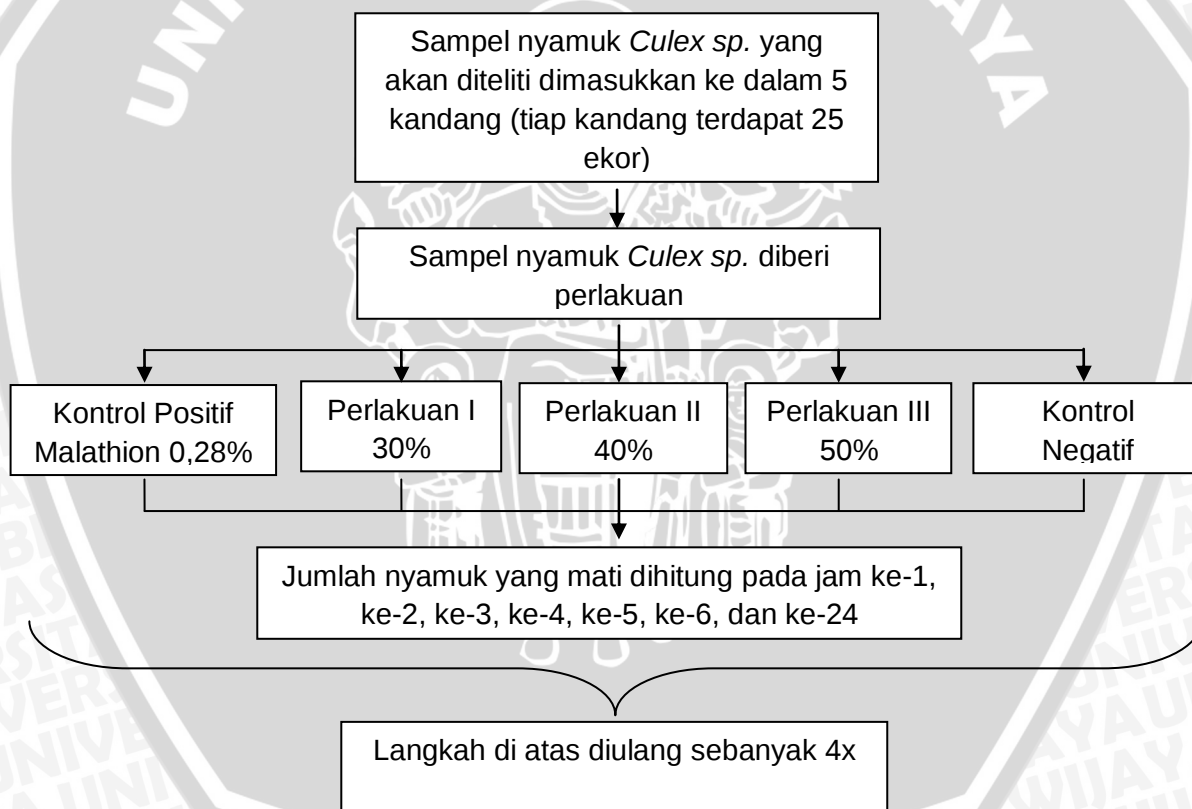
Sebelum dilakukan uji *One-way ANOVA* akan dilakukan uji normalitas dan uji varians terlebih dahulu. Uji *Kolmogorov-Smirnov* digunakan untuk menguji sebaran normal sedangkan uji *Homogeneity* untuk menguji homogenitas data. Bila hasil uji didapatkan variabel data homogen dan sebaran normal, digunakan *ANOVA* untuk uji pengaruh pemberian ekstrak etanol akar alang-alang sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp.* Apabila hasil uji *ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ maka akan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tuckey HSD*. Analisa ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) dengan cara dilakukan perbandingan berganda terhadap perbedaan antara variasi konsentrasi ekstrak etanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai insektisida nyamuk *Culex sp.* pada setiap waktu pengamatan. Kemudian dilanjutkan dengan analisis korelasi *Pearson* di mana analisis untuk melihat kekuatan hubungan antara 2 variabel, yaitu konsentrasi ekstrak etanol akar alang-alang dengan jumlah kematian nyamuk. Setelah mengetahui hubungan antara variabel, maka perlu juga diketahui besarnya hubungan antar variabel yang diuji. Uji yang digunakan adalah Uji Regresi Linier Berganda (Sarwono, 2009).

Tabel 4.1 Interpretasi Koefisien Korelasi

0	:	Tidak ada korelasi
0,00 – 0,25	:	Korelasi sangat lemah
0,25 – 0,50	:	Korelasi cukup
0,50 – 0,75	:	Korelasi kuat
0,75 – 0,99	:	Korelasi sangat kuat
1	:	Korelasi sempurna

(Sarwono, 2009)

4.11 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian