

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni (*true experimental-post test only control group design*) di laboratorium untuk mengetahui potensi insektisida ekstrak *etanol* biji alpukat terhadap nyamuk *Culex sp.* dengan metode elektrik.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang ditangkap secara langsung di area Laboratorium Parasitologi FKUB.

4.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

- Inklusi : 1. Nyamuk *Culex sp.* yang hidup
2. Nyamuk *Culex sp.* yang anggota tubuhnya lengkap
3. Nyamuk *Culex sp.* yang bergerak aktif

Eksklusi : 1. Nyamuk *Culex sp.* yang tidak hidup

4.2.3 Estimasi Besar Sampel

Pada percobaan ini akan digunakan 25 ekor nyamuk per kandang. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi larutan ekstrak biji alpukat terhadap nyamuk *Culex sp.*, maka digunakan 5 kelompok coba. Masing-masing kelompok coba mendapat perlakuan sebagai berikut :

1. Kontrol (-) : Larutan *aquades* steril
2. Kontrol (+) : *d-aletin* 6%
3. Perlakuan I : Gabus yang diisi larutan ekstrak biji alpukat 40%
4. Perlakuan II : Gabus yang diisi larutan ekstrak biji alpukat 50%
5. Perlakuan III : Gabus yang diisi larutan ekstrak biji alpukat 60%

Maka perkiraan jumlah pengulangan yang akan dilakukan berdasarkan rumus di bawah ini :

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

Keterangan : p = jumlah kelompok coba

n = jumlah pengulangan

Maka :

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

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

$$5n - 5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

$$n = 4$$

Jadi, jumlah pengulangan yang akan diperlukan untuk penelitian ini adalah minimal 4 kali.

Tiap perlakuan membutuhkan 25 ekor nyamuk dewasa, sehingga setiap kali percobaan dengan 1 kontrol positif, satu kontrol negatif, serta 3 kali perlakuan dibutuhkan 125 nyamuk dewasa dan jumlah sampel yang digunakan adalah 500 nyamuk dewasa *Culex sp.*

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan September 2014.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah nyamuk *Culex sp.* yang mati akibat pengaruh pemberian ekstrak biji alpukat pada konsentrasi tertentu

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak biji alpukat yang dapat dimodifikasi untuk mengetahui potensinya dalam membunuh nyamuk *Culex sp.*

4.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar obyek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah:

1. Jenis nyamuk
2. Kondisi lingkungan kandang
3. Pemberian ekstrak biji alpukat

4.5 Definisi Operasional

- Nyamuk *Culex sp.* yang digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk *Culex sp.* dewasa yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Nyamuk *Culex sp.* dewasa yang dipilih sebagai sampel adalah nyamuk yang hidup dan aktif bergerak.

- Ekstrak biji alpukat diperoleh dari hasil akhir proses evaporasi. Proses ekstraksi biji alpukat diperoleh berdasarkan tata cara pelaksanaan ekstraksi yang menggunakan etanol 96% sebagai pelarutnya. Proses ekstraksi dilakukan di Politeknik Negeri Malang.
- Metode elektrik adalah metode yang dipakai untuk mengeluarkan zat aktif insektisida yang ada pada gabus mat dengan cara mengevaporasikannya menggunakan listrik.
- Gabus mat steril adalah gabus yang didapat dari obat nyamuk *Hit* elektrik yang disterilkan dengan cara dipanaskan dengan alat pemanas elektrik selama 24 jam kemudian direndam dengan alkohol 70% selama 24 jam untuk membersihkan gabus tersebut dari kandungan insektisida kimiawi yang sebelumnya telah terkandung di dalamnya. Lalu dijemur di bawah sinar matahari tidak langsung selama 5-8 jam. Gabus dinyatakan benar-benar bersih jika warna sudah benar-benar putih dan wewangian sudah tidak dapat tercium lagi. Gabus dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung. Jika gabus kurang kering, gabus dapat ditempatkan di dalam inkubator dengan suhu 80°C selama 15 menit. Kemudian gabus yang telah kering dapat digunakan untuk perlakuan kontrol negatif. Gabus sudah benar-benar bebas dari insektisida kimiawinya apabila tidak terjadi kematian pada nyamuk.
- Volume larutan yang digunakan sebesar 6 mL agar mat elektrik dapat terendam dengan sempurna dalam cawan petri.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

Peralatan untuk ekstraksi biji alpukat, yaitu :

1. Alat pengerus/blender
2. *Glass* beker yang dipakai untuk mencampur serbuk biji alpukat dengan ethanol 96%
3. Kertas *whatman* 40
4. Klem statis
5. Botol penampung hasil ekstraksi
6. Timbangan analitik
7. Oven vacuum

Peralatan uji potensi insektisida biji alpukat adalah :

1. Kandang nyamuk (100cm x 100cm x 60cm) 5 buah
2. Gabus elektrik steril 28 buah
3. Cawan Petri
4. Alat pemanas elektrik
5. Timer

4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak biji alpukat
2. *Aquades*
3. *d-aletin* 6%
4. Nyamuk dewasa *Culex sp.*
5. Larutan gula

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Mengekstrak Biji Alpukat

Pembuatan serbuk biji alpukat dilakukan di Balai Materia Medika, Batu, dan proses ekstraksi biji alpukat di Politeknik Negeri Malang. Kemudian hasilnya akan digunakan dalam proses selanjutnya, yaitu uji potensi ekstrak etanol biji alpukat sebagai insektisida. Adapun prosesnya sebagai berikut :

1. Mencuci bersih, mengeringkan, dan memotong kecil-kecil biji alpukat.
2. Menjemur biji alpukat yang telah dipotong kecil-kecil.
3. Menghaluskan biji alpukat sedikit demi sedikit.
4. Merendam hasil serbuk biji alpukat ke dalam pelarut etanol selama 48 jam.
5. Menyaring larutan etanol dan serbuk biji alpukat untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya.
6. Menguapkan sisa pelarut dengan *vacuum* oven untuk memperoleh ekstrak yang pekat.

4.7.2 Mempersiapkan Nyamuk *Culex sp.*

Cara mendapatkan nyamuk dewasa *Culex sp.* pada penelitian ini adalah dengan mengumpulkan tangan di tempat yang gelap. Kemudian setelah nyamuk hinggap di tangan, satu tangan lainnya menangkap nyamuk tersebut menggunakan gelas air mineral bekas dan menempatkannya di wadah tertutup.

4.7.3 Mempersiapkan Gabus dan Perlekatan Larutan pada Gabus

Memanaskan gabus elektrik yang masih mengandung bahan kimia *d-aletrin* 6% dengan alat pemanas elektrik selama 24 jam. Kemudian merendam gabus tersebut dalam alkohol selama 24 jam. Setelah itu, mengeringkan gabus di bawah sinar matahari tidak langsung sampai berwarna putih, tidak berbau, dan kontur tetap terjaga. Gabus kemudian direndam dalam larutan ekstrak yang telah

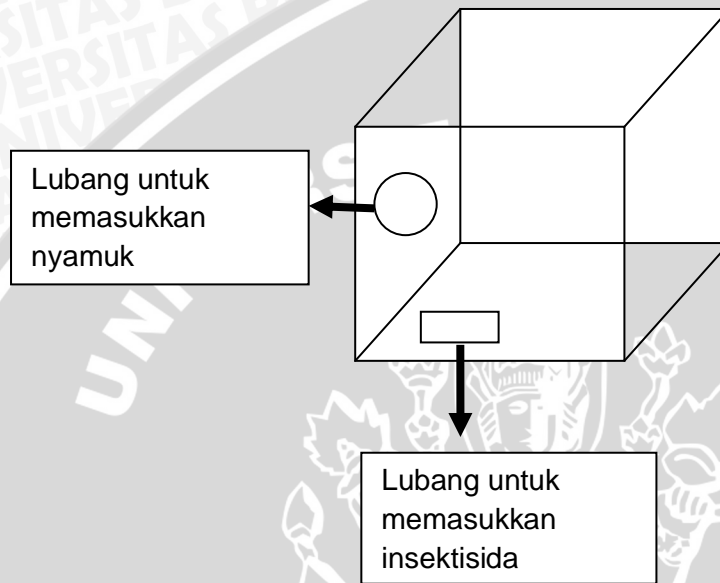
tersedia pada masing-masing konsentrasi selama 5-10 menit agar semua ekstrak dapat terserap sempurna ke dalam gabus.

4.7.4 Uji Potensi Insektisida

Percobaan dibuat dengan menggunakan 5 buah kotak berdinding plastik yang berukuran 100cm x 100cm x 60cm yang diletakkan di ruang penelitian Laboratorium Parasitologi lantai 1. Langkah-langkah uji potensi insektisida sebagai berikut :

1. Menyiapkan larutan ekstrak *etanol* biji alpukat dengan konsentrasi 40%, 50%, dan 60%.
2. Merendam gabus obat nyamuk elektrik yang sudah steril ke dalam gabus tiap larutan.
3. Menyiapkan gabus kontrol positif (*d-alettrin* 6%) dan gabus kontrol negatif (*aquades*) dan gabus yang sudah direndam ke dalam ekstrak *etanol* biji alpukat.
4. Memasukkan masing-masing gabus ke dalam alat pemanas elektrik, kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing kandang, lalu dihubungkan dengan aliran listrik 220V sehingga indikator akan menyala, tanda perlindungan terhadap gangguan nyamuk telah bekerja. Kandang 1 menggunakan gabus berisi larutan *d-alettrin* 6% (kontrol positif), kandang 2 menggunakan *aquades* sebanyak 6mL (kontrol negatif), kandang 3 menggunakan larutan ekstrak *etanol* biji alpukat 40%, kandang 4 menggunakan larutan ekstrak *etanol* biji alpukat 50%, dan kandang 5 menggunakan larutan ekstrak *etanol* biji alpukat 60%
5. Menghitung jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan setelah jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-4, jam ke-5, jam ke-6, dan jam ke-24

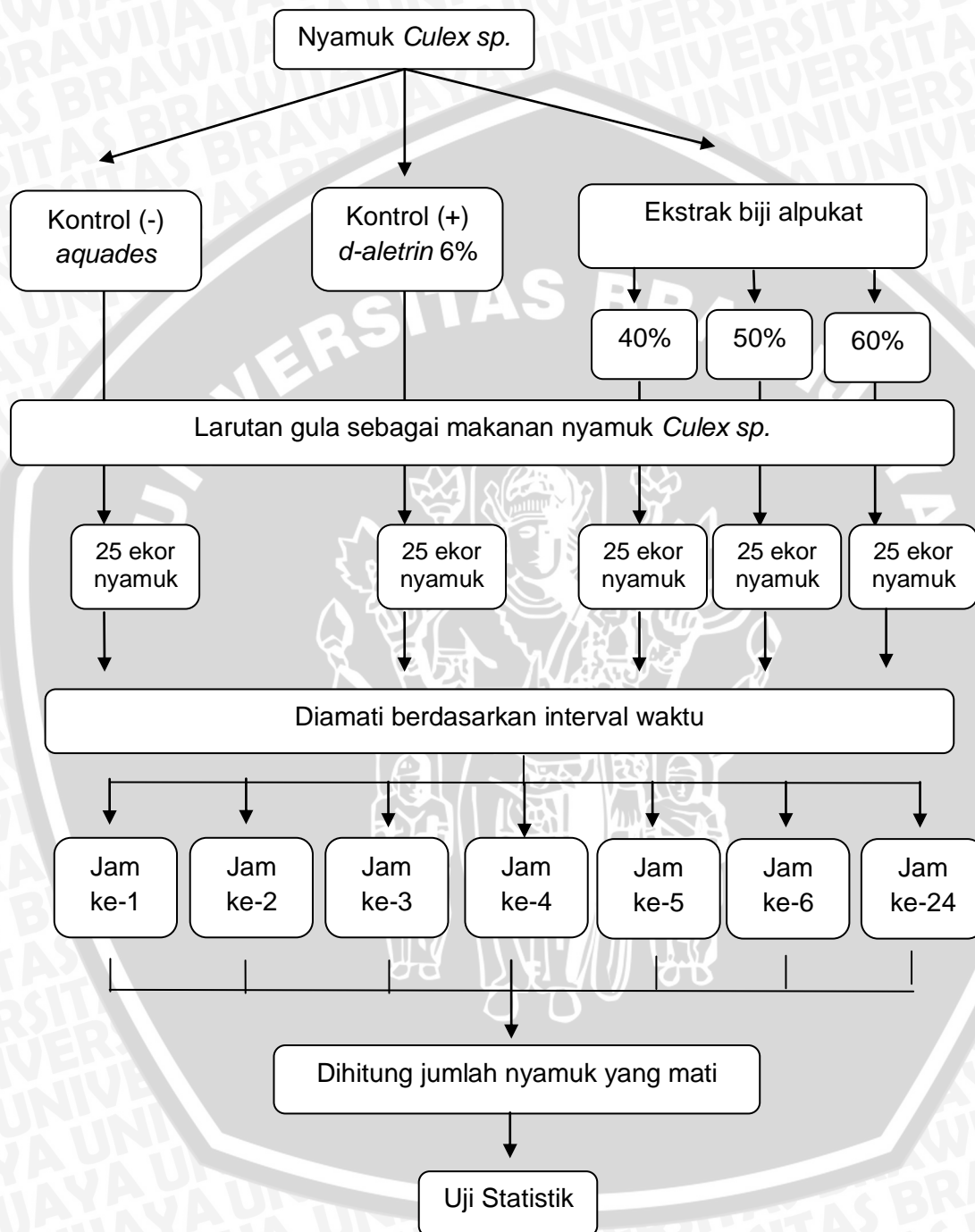
Penelitian ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk masing-masing perlakuan. Spesifikasi kandang yang digunakan adalah sebagai berikut :



Keterangan :

Kandang berukuran 100cm x 100cm x 60 cm yang dibuat dengan membuat kerangka dari kayu dan menempelkan plastik pada semua sisi kecuali bagian depan yang dilubangi untuk tempat memasukkan nyamuk, air gula, dan obat nyamuk elektrik.

4.7.5 Skema Alur Kerja Penelitian



4.7.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-4, jam ke-5, jam ke-6, dan jam ke-24. Keadaan semua kelompok perlakuan diamati untuk mencari perubahan jumlah nyamuk yang hidup. Jumlah nyamuk yang mati dihitung dan dimasukkan dalam tabel.

4.7.7 Pengumpulan Data

Data hasil pengamatan yang telah dilakukan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah nyamuk yang mati, dan waktu pengulangan. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisa dan dimasukkan dalam perhitungan statistik. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah jumlah nyamuk yang mati untuk setiap perlakuan pada pengamatan jam. Data kematian nyamuk akan diolah menjadi data potensi insektisida yang disajikan dalam bentuk tabel.

Data potensi insektisida akan diuji secara statistik. Untuk menentukan jenis analisa yang akan digunakan dalam menguji data ini secara statistik, maka data-data ini harus melalui beberapa uji terlebih dahulu untuk bisa menentukan metode statistik yang sesuai. Sebelum dilakukan analisis dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA), data yang diperoleh dari setiap perlakuan dianalisis kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama (Dahlan, 2009).

Jika data terdistribusi normal dan homogen maka selanjutnya data dianalisis dengan ANOVA. Hipotesis ANOVA:

Ho : Rata-rata hasil penelitian menunjukkan bahwa dari semua perlakuan tidak menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang berbeda secara signifikan terhadap kematian nyamuk.

H1 : Terdapat pengaruh perlakuan yang menunjukkan perbedaan di antara variasi konsentrasi dengan ekstrak betanol biji alpukat dan kontrol yang diuji terhadap kematian nyamuk.

Hipotesis di atas ditentukan berdasarkan nilai signifikansi yang diperoleh, jika nilai signifikansi $>0,05$ berarti Ho ditolak dan H1 diterima. Jika H1 diterima, maka langkah selanjutnya adalah dengan melakukan *Post Hoc Test (Turkey Test)*, Uji Korelasi, dan Uji Regresi Linear.

Jika variabel hasil tidak terdistribusi normal atau varians tidak homogen, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

Selanjutnya melakukan analisis *Post Hoc Test*, untuk uji *Kruskal-Wallis* sebagai analisis *Post Hoc* digunakan uji *Mann-Whitney*, kemudian dilanjutkan uji korelasi *Spearman*.