

BAB IV

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 larutan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp.* dengan metode elektrik.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang dibiakkan mulai dari larva di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian yang diambil adalah nyamuk *Culex sp.* yang dibiakkan mulai dari larva di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan kriteria inklusi sebagai berikut:

- Inklusi: - Nyamuk *Culex sp.* jantan dan betina
- Nyamuk *Culex sp.* yang masih aktif

4.2.3 Estimasi Besar Sampel

Sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya, terlebih dahulu dilakukan penelitian pendahuluan, dengan kriteria rentang konsentrasi yang akan digunakan adalah :

- Konsentrasi terkecil adalah konsentrasi ekstrak daun jambu biji yang tidak mengakibatkan terjadinya kematian terhadap satu kelompok nyamuk *Culex sp.*
- Konsentrasi terbesar adalah konsentrasi ekstrak daun jambu biji yang mengakibatkan kematian terhadap seluruh nyamuk dalam satu kelompok nyamuk *Culex sp.*

Percobaan pendahuluan ini meliputi 5 perlakuan dan penentuan konsentrasi bersifat *trial and error* (coba-coba) yaitu :

- Perlakuan I : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 10%
- Perlakuan II : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 20%
- Perlakuan III : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 30%
- Perlakuan IV : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 40%
- Perlakuan V : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 50%

Setelah itu, dilakukan penelitian sesungguhnya, untuk mengetahui pengaruh konsentrasi larutan ekstrak daun jambu biji terhadap nyamuk *Culex sp.* Penelitian ini meliputi 5 perlakuan dengan 1 kontrol (-) dan 1 kontrol (+) yaitu :

- Kontrol (-) : Larutan akuades steril
- Kontrol (+) : *d-alettrin* 45 mg/mat dan *transfluthrin* 4 mg/mat
- Perlakuan I : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 30%
- Perlakuan II : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 35%
- Perlakuan III : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 40%
- Perlakuan IV : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 45%
- Perlakuan V : Gabus yang diisi larutan ekstrak daun jambu biji 50%

Maka perkiraan jumlah pengulangan yang akan dilakukan adalah :

Dengan rumus : (Tjokronegoro, 2004)

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

$$7(n-1) \geq 16$$

$$7n - 7 \geq 16$$

$$7n \geq 23$$

$$n \geq 3,3$$

$$n \approx 3$$

Keterangan : p = jumlah kelompok coba

n = jumlah pengulangan

Jadi, jumlah pengulangan yang akan diperlukan untuk penelitian ini minimal adalah 3 kali. Tiap perlakuan membutuhkan 25 ekor nyamuk dewasa maka setiap kali percobaan membutuhkan 5 kali perlakuan dan 1 kontrol negatif serta 1 kontrol positif sehingga berjumlah 175 ekor dan dilihat pengaruhnya pada jam ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, dan ke-24.

4.3 Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang mati oleh pemberian larutan ekstrak daun jambu biji pada konsentrasi tertentu.

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah larutan ekstrak daun jambu biji dengan berbagai konsentrasi dan penentuan waktu pengamatan misalnya jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, dsb.

4.5 Definisi Operasional

- Ekstrak daun jambu biji adalah minyak kental yang didapatkan sebagai hasil dari rangkaian proses ekstraksi dan destilasi daun jambu biji, sedangkan larutan ekstrak daun jambu biji adalah ekstrak daun jambu biji yang dilarutkan dengan akuades.
- Nyamuk *Culex sp.* adalah nyamuk yang dibiakkan mulai dari larva di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Gabus elektrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabus Hit® yang sudah disterilkan dengan cara dipakai selama 1 hari kemudian direndam dengan alkohol 90% selama 3 hari dan kemudian direndam dengan larutan ekstrak daun jambu biji sesuai konsentrasi yang telah ditentukan.
- Sebagai kontrol negatif digunakan gabus yang direndam akuades sedangkan kontrol positif dalam penelitian ini adalah gabus Hit® elektrik.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Alat untuk ekstraksi dan evaporasi ekstrak daun jambu biji :

- Alat penggerus / blender

- Corong gelas
- Gelas ukur
- Labu erlemeyer atau beaker glass (dengan volume 1 liter) untuk merenda, bubuk ekstrak daun jambu biji
- 1 set alat evaporasi : labu penampung, pendingin spiral, labu rotasi ekstraksi, waterbath dan vakum, klem statis, selang plastic, waterpump, bak penampung akuadest, tabung penampung hasil ekstraksi.
- Oven
- Neraca analitik

Alat-alat untuk uji potensi

- Spuit 1 cc, 3 cc, dan 5 cc
- Bak penampung akuades
- Gelas penampung hasil perasan
- Timbangan analistik
- Freezer / lemari es
- Pisau
- Botol air mineral bekas
- Sangkar plastik (100 cm x 100 cm x 60 cm)
- Alat pemanas obat nyamuk elektrik
- Gabus obat nyamuk elektrik
- Timer

4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Daun jambu biji
- Etanol 96 % sebagai pelarut ekstrak
- Akuades
- Kertas saring
- Larutan ekstrak daun jambu biji
- Nyamuk dewasa *Culex sp.*
- Gabus obat nyamuk elektrik yang direndam alkohol 90% selama 24 jam, lalu direndam air
- Gabus obat nyamuk elektrik yang berisi *d-alettrin* 45 mg/mat dan *transfluthrin* 4 mg/mat

4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Proses ekstraksi daun jambu biji dilakukan berdasarkan tatacara pelaksanaan ekstraksi dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Adapun prosesnya sebagai berikut :

- Daun jambu biji yang akan digunakan dicuci dengan air bersih yang mengalir.
- Daun jambu biji tersebut setelah dicuci diiris tipis dan dikeringkan dengan sinar matahari kemudian dimasukkan ke dalam oven agar daun jambu biji tersebut menjadi kering sempurna dengan suhu oven 70°C.
- Setelah itu daun jambu biji tersebut dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya 100 gram.
- Serbuk daun jambu biji tersebut dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer flask* 1 L untuk direndam dengan etanol selama 1 (satu) minggu.

- Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan daun jambu biji dengan pelarut etanol).

Proses evaporasi bertujuan pula untuk memisahkan hasil ekstrak yang telah didapatkan dengan pelarut etanol. Adapun prosesnya sebagai berikut :

- Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30°-40°C terhadap meja percobaan.
- Hasil rendaman etanol yang berupa larutan dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendingin spiral dihubungkan pada bagian atas evaporator; pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik; pendingin spiral dihubungkan dengan *water pump* dengan selang plastik dengan aliran air dingin.
- *Water pump* ditempatkan dalam bak yang berisi akuades, *water pump* dihubungkan dengan sumber listrik sehingga akuades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
- Satu set evaporasi diletakkan, sehingga sebageian labu pemisah ekstraksi terendam akuades pada *water pump*.
- Vakum dan *water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhu pada *water bath* sekitar 70°C (sesuai dengan titik didih etanol).
- Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam.
- Dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 1-2 hari.

- Hasil akhir yang berupa pasta dari daun jambu biji inilah yang akan digunakan dalam percobaan ini.

Hasil ekstrak ini ditimbang dengan timbangan analitik dan akan disimpan dalam lemari es untuk memperlambat kerusakan. (Royston M et al, 1969)

4.7 Cara Kerja dan Pengumpulan Data

4.7.1 Penyiapan Larutan

Cairan pelarut ekstrak daun jambu biji yang digunakan adalah larutan akuades. Larutan stok ekstrak daun jambu biji dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji .

4.7.2 Penyiapan Larutan Uji

Ekstrak pekat daun jambu biji yang tersimpan di lemari es disesuaikan suhunya dengan suhu kamar dengan cara membiarkan di udara kamar selama 15 menit dan dianggap konsentrasi 100%. Selanjutnya untuk mendapatkan 100 ml larutan stok 50% dilakukan pengenceran dengan cara 50 ml ekstrak daun jambu biji 100% ditambah dengan 50 ml pelarut (akuades). Manakala pembuatan larutan untuk perlakuan pula dibuat dengan mengencerkan larutan stok 50% tadi kepada konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan rumus :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :

M_1 : Konsentrasi larutan stok larutan ekstrak daun jambu biji

M_2 : Konsentrasi larutan stok larutan ekstrak daun jambu biji yang diinginkan

V_1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V_2 : Volume larutan perlakuan yang diperlukan

Volume akhir larutan perlakuan yang diperlukan untuk setiap konsentrasi dan setiap perlakuan adalah 6 ml. Jadi, setelah diambil dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan akuades sampai mencapai volume 6 ml.

4.7.3 Persiapan Nyamuk *Culex sp.*

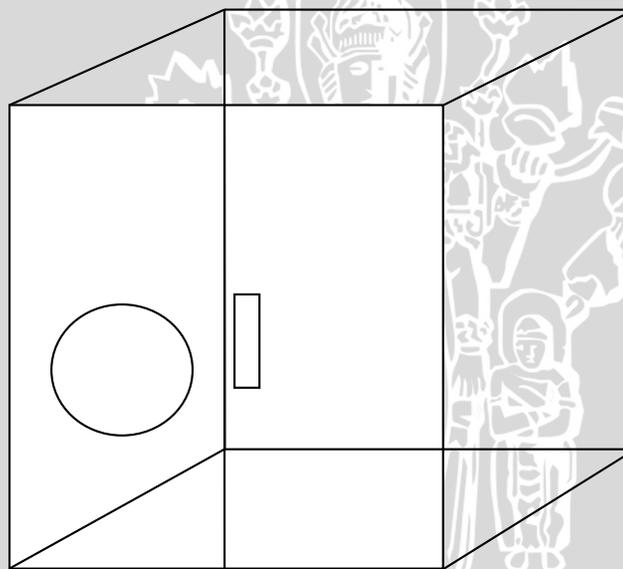
Nyamuk dewasa *Culex sp.* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Nyamuk dewasa yang telah diidentifikasi sebelumnya diletakkan dalam sangkar plastik yang telah disediakan untuk kemudian digunakan sebagai bahan penelitian.

4.7.4 Uji Potensi Insektisida

Percobaan dilakukan dengan menggunakan 7 buah kotak plastik berbentuk bujur sangkar berukuran $100 \times 100 \times 60$ cm³ yang diletakkan di ruang penelitian laboratorium parasitologi lantai 1. Pertama menyiapkan larutan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 30%; 35%; 40%; 45%; 50%, rendam gabus obat nyamuk elektrik yang sudah steril ke setiap larutan. Lalu menyiapkan gabus kontrol positif (*d-aletrin* 45 mg/mat dan *transfluthrin* 4 mg/mat) dan gabus kontrol negatif (akuades) dan gabus yang telah direndam larutan ekstrak daun jambu biji. Masing-masing gabus dimasukkan ke dalam obat nyamuk 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 dan *d-aletrin* 45 mg/mat dan *transfluthrin* 4 mg/mat (kontrol positif), kandang 2 menggunakan akuades sebanyak 3 ml (kontrol negatif),

kandang 3 menggunakan gabus berisi larutan ekstrak daun jambu biji 30%, kandang 4 menggunakan gabus berisi larutan ekstrak daun jambu biji 35%, kandang 5 menggunakan gabus berisi larutan ekstrak daun jambu biji 40%, kandang 6 menggunakan gabus berisi larutan ekstrak daun jambu biji 45%, dan kandang 7 menggunakan gabus berisi larutan ekstrak daun jambu biji 45%. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah pengaktifan elektrik pada 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 tiap perlakuan.

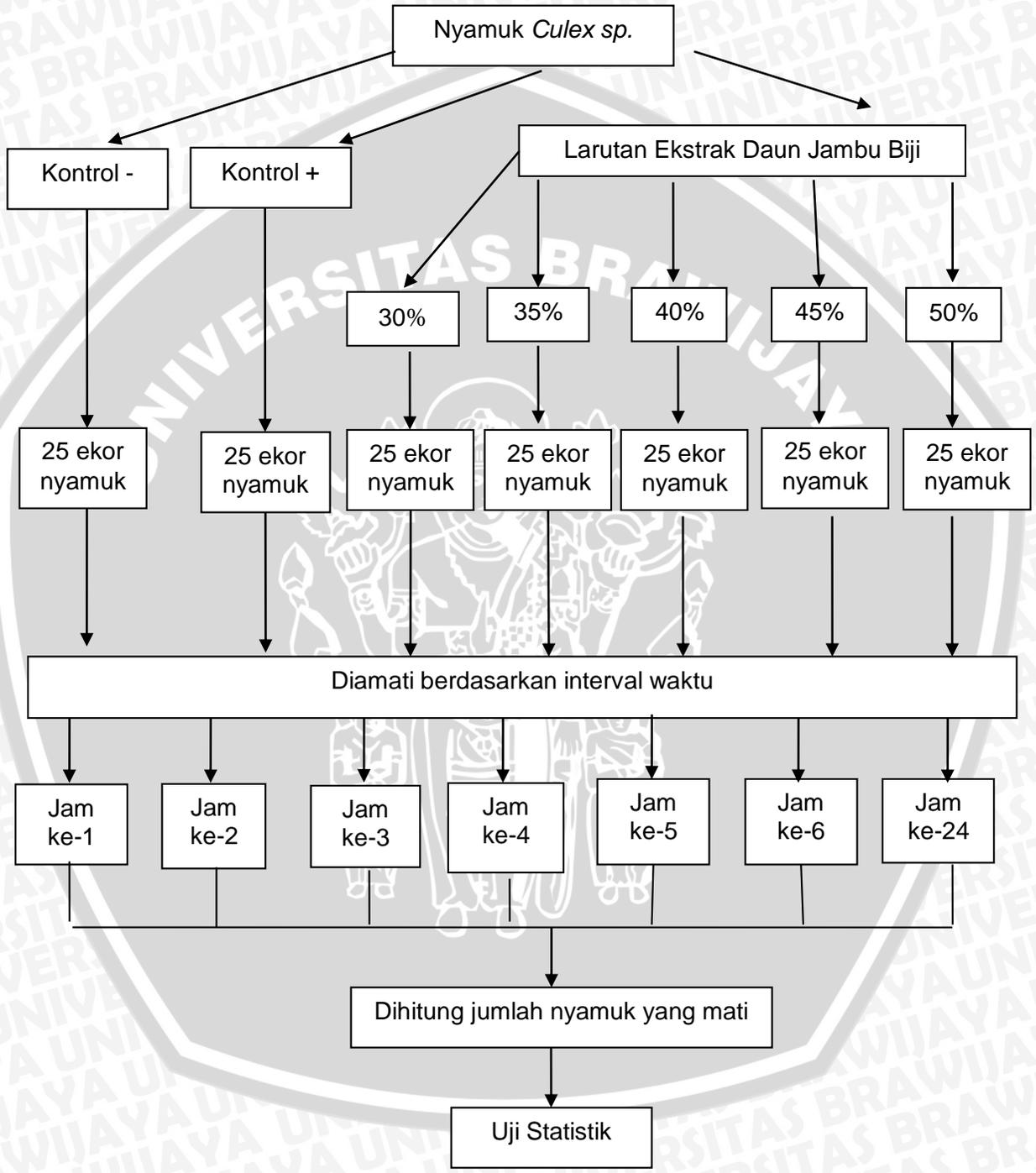


Gambar 4.1 Kandang Nyamuk Penelitian

Keterangan :

Kotak berukuran 100 cm x 100 cm x 60 cm yang dibuat dengan memodifikasi sangkar dan menempelkan plastik pada semua sisi kecuali bagian depan kanan yang dilubangi untuk tempat memasukkan nyamuk dan obat nyamuk elektrik.

Skema Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

4.7.5. 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.

4.7.6. Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah nyamuk yang mati, dan waktu pengulangan. Dari tabel tersebut hasilnya akan dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik.

4.7.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah jumlah nyamuk yang mati untuk setiap perlakuan setelah pengamatan jam. Data kematian nyamuk akan diolah menjadi data potensi insektisida dengan menggunakan *Abbott's Formula*, yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control (-) mortality}}{100 - \% \text{ control (-) mortality}} \times 100$$

Keterangan :

- *% tes mortality* adalah jumlah persentase kematian nyamuk pada masing-masing perlakuan
- *% control (-) mortality* adalah jumlah persentase kematian pada kontrol negatif

Data potensi insektisida terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya untuk mengetahui apakah akan digunakan uji parametrik atau non-parametrik. Setelah melalui uji normalitas dan homogenitas didapatkan bahwa data pada penelitian ini tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik sehingga uji yang dipilih adalah uji non-parametrik *Kruskal Wallis* dengan interpretasi sebagai berikut :

H_0 : rata-rata hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi perlakuan (kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 30%, konsentrasi 35%, konsentrasi 40%, konsentrasi 45%, dan konsentrasi 50%) dan variasi waktu (jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-4, jam ke-4, jam ke-5, jam ke-6, dan jam ke-24) tidak menunjukkan adanya pengaruh potensi insektisida yang berbeda secara signifikan terhadap kematian nyamuk.

H_1 : terdapat pengaruh perlakuan (potensi insektisida) yang menunjukkan perbedaan diantara variasi perlakuan dengan larutan ekstrak daun jambu biji dan kontrol yang diuji terhadap kematian nyamuk dengan metode elektrik.

H_0 diterima apabila nilai signifikansi yang diperoleh berada di atas alpha 0.05 ($p > 0,05$). Sedangkan H_1 diterima apabila nilai signifikansi yang diperoleh berada di bawah alpha 0.05 ($p < 0,05$).

Apabila H_1 diterima, untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Tests* dan dilanjutkan dengan mencari dan mengetahui kekuatan hubungan antar variabel dengan uji korelasi dan regresi linier (Dahlan, 2004).