

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai insektisida terhadap *Musca domestica* dengan menggunakan metode semprot.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

##### 4.2.1 Populasi

Pada penelitian ini menggunakan lalat *Musca domestica* yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah:

- Lalat *Musca domestica* yang masih hidup
- Masih bergerak secara aktif

Sedangkan kriteria eksklusi adalah lalat *Musca domestica* yang tidak aktif bergerak atau mati sebelum diberi perlakuan.

##### 4.2.2 Sampel

Jumlah sampel lalat *Musca domestica* yang digunakan adalah 10 ekor untuk setiap jenis perlakuan (WHO, 2006).

Pada penelitian ini, digunakan kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*), sehingga jumlah pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus estimasi pengulangan (Loekito, 1998) :

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan : P : jumlah perlakuan yang dilakukan

n : jumlah pengulangan

Jadi berdasarkan hasil perhitungan, pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini minimal 4 kali. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak :  $4 \times 5 \times 10 = 200$  ekor lalat *Musca domestica*

### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus 2015

### 4.4 Variabel Penelitian

#### 4.4.1 Variabel *Dependent* (tergantung)

Variabel *dependent* (variabel tergantung) adalah jumlah lalat *Musca domestica* yang mati .

#### 4.4.2 Variabel *Independent* (bebas)

Variabel *independent* (variabel bebas) adalah konsentrasi (dalam%) ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica*.

### 4.5 Definisi Operasional

1. Daun sirsak (*Annona muricata*) berasal dari Dinas Pertanian Kota Batu, Jawa Timur. Daun sirsak yang digunakan adalah daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata*)

dilakukan di Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol.

2. Lalat *Musca domestica* bentuk dewasa didapat dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Kontrol positif adalah kandang yang telah disemprotkan *Malathion* 0,28% pada keenam sisi kandang yang kemudian dimasukkan 10 ekor *Musca domestica*.
4. Kontrol negatif adalah kandang yang telah disemprotkan *Aceton* 1% pada keenam sisi kandang yang kemudian dimasukkan 10 ekor *Musca domestica*.
5. Banyaknya jumlah lalat *Musca domestica* yang mati setelah dilakukan perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) yang ditandai dengan tidak bergerak dengan pemberian rangsang sentuhan yang dihitung kematiannya setiap 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, 6 jam, dan 24 jam.

#### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.6.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol daun sirsak serta alat-alat yang digunakan untuk uji potensi insektisida daun sirsak (*Annona muricata*).

- o Alat Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*):
  1. Alat penggerus/*blender*
  2. Tabung untuk merendam serbuk kering daun sirsak yang sudah digerus

3. Satu set alat evaporasi
  4. Selang plastik
  5. Waterbath
  6. Water pump
  7. Bak penampung aquades
  8. Botol penampung hasil ekstraksi
  9. Klem statis
  10. Oven
  11. Timbangan analitik
  12. Freezer/lemari es
- Alat untuk Uji Potensi Insektisida Daun Sirsak (*Annona muricata*):
    1. Sangkar kaca
    2. *Sprayer*/alat semprotan
    3. Gelas ukur
    4. Timer
    5. Spuit 6 ml/cc

#### 4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dan bahan uji potensi insektisida daun sirsak (*Annona muricata*).

- Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak:
  1. Daun sirsak (*Annona muricata*)
  2. Aquades

3. Pelarut ekstrak (Etanol 96%)
4. Kertas saring
- o Bahan Uji Potensi Insektisida Daun Sirsak
  1. Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*)
  2. Lalat *Musca domestica* 10 ekor setiap perlakuan
  3. Cairan *Malathion* 0,28%
  4. *Aceton* 1%

#### 4.7 Metode Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Cara Kerja Penelitian

##### 4.7.1.1 Persiapan Penelitian

##### 4.7.1.1.1 Ekstraksi dan Evaporasi Daun Sirsak (*Annona muricata*)

Persiapan penelitian yang dilakukan yaitu pembuatan ekstrak etanol daun sirsak. Daun sirsak yang telah didapatkan diekstraksi dengan cara maserasi yaitu dengan pelarut etanol 96%. Adapun prosesnya sebagai berikut (Martono, 2002):

1. Memotong kecil-kecil daun sirsak yang telah disiapkan
2. Mengeringkan daun sirsak yang telah dipotong dengan sinar matahari tidak langsung atau diangin-anginkan selama 1 jam, kemudian memasukkan daun sirsak ke dalam oven dengan suhu oven 60-80°C selama 12 jam. Bila tidak ada oven, maka mengeringkan dengan sinar matahari langsung selama 2 hari berturut-turut selama 5-6 jam. Proses pengeringan ini sampai daun sirsak benar-benar kering (kurang lebih berkadar air 5%). untuk memenuhi standar kekeringan dan melakukan peremasan daun dan bila daun tersebut hancur berarti memenuhi standar kekeringan daun.

3. Memblender daun sirsak kering dan mendapatkan 100 gram serbuk daun sirsak (Susan, 2002).
4. Kemudian membungkus serbuk daun sirsak tersebut dengan kertas saring lalu memasukkannya ke dalam botol untuk direndam dengan etanol.
5. Memasukkan pelarut etanol ke dalam botol dengan perbandingan 100 gram daun sirsak kering dalam 1 liter etanol sampai serbuk yang terbungkus kertas saring tersebut terendam dalam pelarut etanol selama kurang lebih 1 minggu. Selama perendaman, mengganti etanol sebanyak 2 kali yaitu hari ke-3 dan ke-5 agar bahan aktif yang terkandung dapat keluar dan larut dalam etanol.
6. Selanjutnya mengevaporasi hasil perendaman.
7. Proses selanjutnya adalah proses evaporasi yang bertujuan memisahkan hasil ekstrak dengan pelarut etanolnya. Adapun prosesnya adalah sebagai berikut:
  - a. Memasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan  $30-40^{\circ}$ .
  - b. Memindahkan hasil rendaman etanol ke labu pemisah ekstraksi.
  - c. Menghubungkan labu pemisah ekstraksi pada bagian evaporator, menghubungkan pendingin spiral dengan vakum dan selang plastik, dan menghubungkan pendingin spiral yang lainnya dengan *water pump* dan selang plastik.
  - d. Menempatkan *Water pump* dalam bak yang berisi aquades, menghubungkan *water pump* dengan sumber listrik sehingga

- aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
- e. Meletakkan satu set alat evaporasi sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *water bath*.
  - f. Menghubungkan vakum dan *water bath* dengan sumber listrik dan menaikkan suhu pada *water bath* 70°C (sesuai dengan titik didih etanol).
  - g. Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam. Kemudian melakukan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 1-2 hari.
  - h. Hasil ekstrak berupa minyak kental.
8. Menimbang hasil ekstrak ini dengan timbangan analitik dan menyimpan hasil ekstrak di dalam lemari es untuk memperlambat kerusakan.

#### 4.7.1.1.2 Penyiapan Larutan Stok

Ekstrak pekat daun sirsak yang disimpan di dalam kulkas perlu diturunkan suhunya sesuai dengan suhu kamar dengan cara membiarkannya di udara kamar selama 15 menit.

#### 4.7.1.1.3 Pembuatan Larutan Perlakuan

Ekstrak pekat daun sirsak diencerkan dengan menggunakan *aseton* 1% dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

M1 : Molaritas larutan sebelum pengenceran

V1 : Volume larutan sebelum pengenceran

M2 : Molaritas larutan sebelum pengenceran

V2 : Volume larutan setelah pengenceran (Rohaya dkk, 2014)

#### 4.7.1.2 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mencari dosis atau konsentrasi perlakuan yang sesuai untuk uji coba di dalam eksperimen. Dasar penentuan dosis atau konsentrasi pada studi pendahuluan adalah *trial* dan *error*. Dosis atau konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan dalam penelitian pendahuluan ini adalah 45%, 50%, dan 55%. Jumlah lalat *Musca domestica* ditetapkan 10 ekor per kelompok. LD<sub>100</sub> ditentukan dengan melihat seberapa besar dosis atau konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 100% sampel lalat *Musca domestica* dalam jangka waktu 24 jam.

#### 4.7.1.3 Pelaksanaan Penelitian

1. Melakukan penelitian dengan menggunakan 5 buah kandang berdinding kaca
2. Memberi makan lalat *Musca domestica* dengan air gula 6 jam sebelum dilakukan penelitian.
3. Menyiapkan larutan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dengan konsentrasi 50%, 55%, 60% serta kontrol positif dan kontrol negatif.
4. Mengambil ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi), insektisida *Malathion* 0,28%

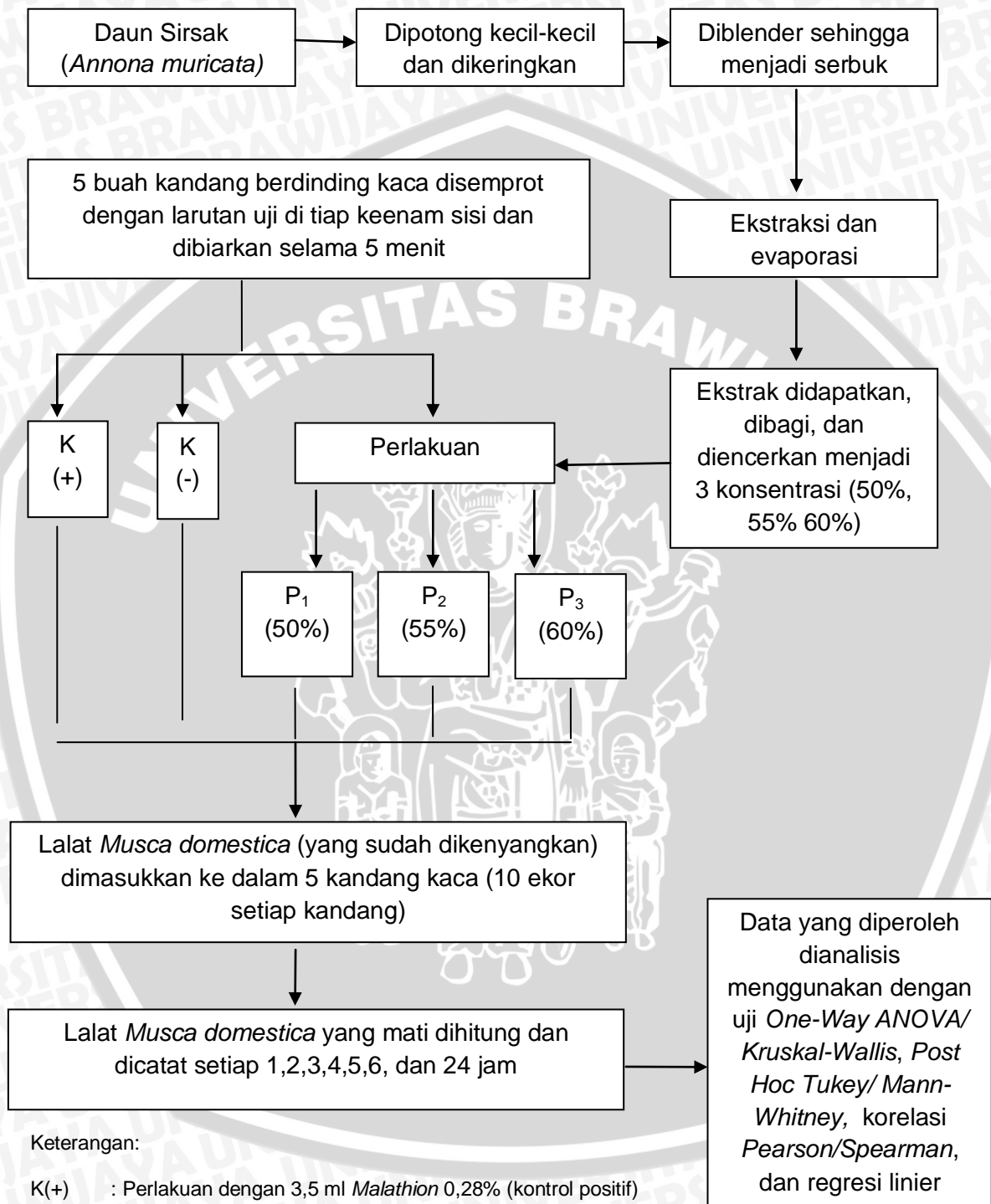


sebagai kontrol positif dan *Aceton* 1% sebagai kontrol negatif.

Kemudian memasukkannya ke dalam masing-masing sprayer.

5. Menyemprot kandang 1 dengan menggunakan *Malathion* 0,28% sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol positif (WHO, 2006).
6. Menyemprot kandang 2 dengan menggunakan *Aceton* 1% sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol negatif.
7. Menyemprot kandang 3 dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dengan konsentrasi 50% sebanyak 3,5 ml
8. Menyemprot kandang 4 dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dengan konsentrasi 55% sebanyak 3,5 ml
9. Menyemprot kandang 5 dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dengan konsentrasi 60% sebanyak 3,5 ml
10. Kemudian, membiarkan selama 5 menit sehingga larutan yang disemprot merata pada seluruh ruang kandang
11. Memasukkan lalat *Musca domestica* sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing kandang yang akan diteliti setelah 5 menit.
12. Menghitung jumlah lalat *Musca domestica* yang mati pada setiap perlakuan setelah penyemprotan yaitu pada 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, 6 jam, dan 24 jam setelah penyemprotan.

4.7.1.4 Diagram Alur Penelitian



Keterangan:

- K(+): Perlakuan dengan 3,5 ml *Malathion* 0,28% (kontrol positif)
- P<sub>1</sub>: Perlakuan dengan 3,5 ml ekstrak dengan konsentrasi 50%
- P<sub>2</sub>: Perlakuan dengan 3,5 ml ekstrak dengan konsentrasi 55%
- P<sub>3</sub>: Perlakuan dengan 3,5 ml ekstrak dengan konsentrasi 60%
- K(-): Perlakuan dengan 3,5 ml *Aceton* 1% (kontrol negatif)



#### 4.7.2 Pengumpulan Data

Data hasil yang diperoleh dari pengamatan dimasukkan ke dalam tabel.

Data diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah lalat *Musca domestica* yang mati dan waktu pengulangan. Dari tabel tersebut, hasilnya dianalisis dan dimasukkan dalam penghitungan statistik.

#### 4.8 Uji Statistik dan Metode Tabulasi Data

Persentase kemampuan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai insektisida dihitung dengan menggunakan rumus,

$$\text{Mortality (\%)} = \frac{X - Y}{100\% - Y} \times 100\%$$

Keterangan :

- Mortality = persentase kematian lalat *Musca domestica* dewasa setelah koreksi.
- X = persentase kematian lalat *Musca domestica* dewasa uji.
- Y = persentase kematian lalat *Musca domestica* dewasa kontrol negatif (WHO, 2006).

#### 4.9 Metode Analisis Data

Analisis data yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah uji *one way ANOVA* (*One Way Analysis of Variance*). Uji statistik dengan *ANOVA* ini kemudian ditabulasikan rata-ratanya dengan parameter  $\alpha = 0,05$  dimana apabila diperoleh  $p > 0,05$  maka tidak terdapat perbedaan nyata antara kontrol dengan perlakuan, sebaliknya bila  $p < 0,05$  menunjukkan ada perbedaan bermakna (Hanafi, 2005). Apabila distribusi data tidak normal dan tidak homogen maka analisis dilakukan dengan analisis statistik *SPSS versi 22.0* dengan metode *Kruskal-Wallis*.