

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-posttest only control group desain* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica sp.* Dengan menggunakan metode semprot.

4.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dimulai pada tanggal 01 juli 2015 – 07 juli 2015.

4.3 Sampel dan Estimasi Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan lalat *Musca domestica sp.* dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut :

- a) Kriteria inklusi : Semua lalat *Musca domestica sp.* dewasa yang hidup dan aktif bergerak.
- b) Kriteria Eksklusi : Semua lalat *Musca domestica sp.* dewasa yang tidak aktif bergerak / mati.

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

4.3.1 Perlakuan

Besarnya konsentrasi penelitian ditentukan setelah didapatkan perkiraan konsentrasi terendah ekstrak daun kenikir yang mempunyai potensi sebagai insektisida dari studi pendahuluan. Perlakuan yang diberikan pada sampel adalah dengan membagi menjadi lima perlakuan. Dimulai dari konsentrasi 10% dibawah konsentrasi dari studi pendahuluan dan meningkat berjenjang dengan interval 2,5% sampai dengan konsentrasi terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan.

Kontrol negatif	: Disemprot dengan steril <i>aquadest</i> (tanpa pemberian ekstrak daun kenikir)
Kontrol positif	: Disemprot dengan komponen <i>melathion</i> 0,28% (tanpa pemberian ekstrak daun kenikir)
Perlakuan 1	: Terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan (X) – 10%
Perlakuan 2	: Terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan (X) – 7,5%
Perlakuan 3	: Terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan (X) – 5%
Perlakuan 4	: Terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan (X) – 2,5%
Perlakuan 5	: Terendah yang diperkirakan berpotensi sebagai insektisida pada studi pendahuluan (X) – 0%

4.3.2 Pengulangan

Pengulangan eksperimen berdasarkan rumus $P(n-1) \geq 15$ (Solimun, 2001). Maka jumlah pengulangannya adalah sebagai berikut :

Keterangan :

P = Banyak kelompok perlakuan

n = Jumlah replikasi (pengulangan)

Perhitungan :

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jadi berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah minimal 4 kali.

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Dependent (Tergantung)

Variabel *dependent* (variabel tergantung) adalah potensi ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica*.

4.4.2 Variabel Independent (Bebas)

Variabel *independent* (variabel bebas) adalah konsentrasi (dalam %) dan lama waktu paparan ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica*.

4.4.3 Ekstrak Daun Kenikir

Ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) adalah daun kenikir yang sudah dikeringkan yang kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol yang dianggap memiliki kandungan ekstrak sebesar 100%.

4.4.4 Lalat *Musca Domestica*

Lalat (*Musca domestica*) dewasa merupakan lalat yang digunakan dalam penelitian ini. Lalat dalam penelitian ini didapatkan dengan cara membeli dari laboratorium parasit Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Untuk mengetahui lalat yang sudah mati pada penelitian ini, yaitu: bila dilakukan sentuhan atau gangguan pada bagian abdomen atau bagian tubuh yang lainnya pada lalat dan tidak didapatkan pergerakan lalat *Musca domestica* sp. dewasa. Untuk mengetahui potensi ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphueus*) dihitung dengan menggunakan nilai hasil dari Uji Korelasi Uji Regresi pada hasil data yang dikoreksi dengan formula Abbott:

$$\text{Mortality (\%)} = \frac{x-y}{100-y} \times 100\%$$

Keterangan :

- Mortality = persentase kematian lalat setelah koreksi.
- X = Persentase lalat uji.
- Y = Persentase kematian lalat kontrol negatif. (WHO, 2006)

4.4.5 Potensi Efektif

World Health Organisation (WHO) pada tahun 1995, telah mengeluarkan standart efektifitas insektisida bahwa insektisida bisa dikatakan efektif membunuh serangga uji yaitu mampu memberikan efek kematian 100%.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun kenikir dan alat-alat yang digunakan untuk uji potensi insektisida daun kenikir.

Alat-alat untuk pembuatan Ekstrak Daun kenikir :

1. Alat Penggerus / Blender
2. Tabung untuk merendam serbuk kering daun kenikir yang sudah di gerus
3. Satu set alat evaporasi
4. Selang plastik
5. *Waterbath*
6. *Water pump*
7. Bak penampung *aquadest*
8. Botol penampung hasil ekstraksi
9. Klem statis
10. *Oven*
11. Timbangan analitik
12. *Freezer* / lemari es

Alat untuk Uji Potensi Insektisida Daun Kenikir :

1. Kandang alat dengan keluasaan kotak (25 cm x 25 cm x 25 cm)
2. Spray / alat semprotan

3. Gelas ukur
4. Jarum
5. Spet

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) dan bahan uji potensi insektisida daun kenikir (*Cosmos sulphureus*).

Bahan Pembuatan Ekstrak Daun kenikir :

1. Daun Kenikir
2. *Aquadest*
3. Pelarut ekstrak
4. Kertas saring

Bahan Uji Potensi Insektisida Daun Kenikir

1. Ekstrak daun kenikir
2. *Aquadest*
3. Lalat 10 ekor setiap perlakuan
4. Cairan Malathion

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Persiapan Penelitian

4.6.1.1 Proses Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir

1. Daun kenikir dijemur sampai kering, setelah itu daun kenikir yang kering di haluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.
2. Masukkan 500 gram kenikir kering ke dalam botol lalu rendam dengan etanol.

3. Pelarut etanol sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam botol sehingga serbuk yang terbungkus kertas saring terendam dalam pelarut etanol. Biarkan sampai rendaman berwarna coklat tua (± 2 hari).
4. Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain.
5. Ekstraksi dilakukan dengan beberapa kali penggantian etanol.
6. Hentikan ekstraksi jika etanol dengan tempat penampungan serbuk daun kenikir sudah jernih (setelah satu minggu).
7. Semua hasil rendaman ditempatkan di satu botol.

4.6.1.2 Proses Evaporasi Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos sulphureus*)

Langkah pertama, memasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung pada kemiringan 30° - 40° terhadap meja percobaan. Labu pemisah ekstraksi digunakan untuk memisah hasil rendaman etanol 96 % yang berbentuk larutan dengan cara menghubungkan labu pemisah bagian bawah evaporator, lalu pendingin spiral di hubungkan di bagian atas evaporator. Pendingin spiral juga di hubungkan dengan vakum dan *water pump* dengan selang *plastic*. *Water pump* ditempatkan kedalam bak yang berisi *aquadest*, apabila di hidupkan dengan sumber listrik, *aquadest* akan mengalir memenuhi pendingin spiral dan di tunggu sehingga air mengalir rata. Satu set evaporator diletakkan sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam *aquadest* pada *water bath*.

Vakum dan *water bath* dihidupkan dengan sumber listrik, suhu *water bath* dinaikkan sampai 70°C , yaitu merupakan titik didih etanol 96% selama kurang lebih 2-3jam, sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa didalam labu pemisah. Hasil evaporasi dipanaskan didalam oven selama 1-2hari pada suhu 50 - 60°C . hasil akhir ekstrak etanol daun kenikir adalah berupa minyak

kental, lalu hasil ekstrak ini ditimbang dengan timbangan analitik (SHINKO) dan disimpan didalam lemari es untuk memperlambat kerusakan.

4.6.1.3 Pembuatan Larutan Stok 50%

Ekstrak pekat daun kenikir 100% yang disimpan dalam kulkas perlu di turunkan suhunya sesuai dengan suhu kamar dengan cara membiarkan di udara kamar selama 15 menit. Eksrak etanol daun kenikir sebanyak 4 ml dicampurkan dengan pelarut 4 ml *aquadest* untuk menghasilkan larutan stok 50%.

4.6.1.4 Pembuatan Larutan Perlakuan

Larutan stok 100% dilarutkan kedalam *aquadest* hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

$$M1 \times V1 = M2 \times v2$$

Keterangan :

M₁: Konsentrasi larutan stok yang sebesarnnya 100 %

M₂: Konsentrasi larutan yang diinginkan

V₁: Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V₂: Volume larutan perlakuan yang besarnya 4,0 ml

Untuk kelompok kontrol negatif digunakan 4,0 ml *aquadest* dan untuk kontrol positif menggunakan 4,0 ml malathion 0,28%. Sedangkan untuk kelompok perlakuan digunakan 5 dosis berdasarkan perkiraan dosis terendah yang efektif dari studi pendahuluan (X%): V₁=(X-10%), V₂=(X-7,5%), V₃=(X-5%), V₄=(X-2,5%), dan V₅=(X). Semua kelompok dilarutkan dalam *aquadest* hingga didapatkan volume akhir sebanyak 5,0 ml. konsentrasi yang ditentukan (WHO,

2006). Cara pembuatan dosis larutan pada perlakuan yang diinginkan adalah sebagai berikut:

- Untuk membuat larutan 20% sebanyak 5ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak: $100\% \times V1 = 20\% \times 5\text{ ml}$

$$V1 = 1\text{ ml}$$

Kemudian larutan stok 1 ml dilarutkan dengan 4ml aquades steril, sehingga didapat jumlah volume total sebanyak 5ml.

- Untuk membuat larutan 22,5% sebanyak 5 ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak: $100\% \times V1 = 22,5\% \times 5\text{ ml}$

$$V1 = 1,125\text{ ml}$$

Kemudian larutan stok 1,125ml dilarutkan dengan 3,875 ml aquades steril, sehingga didapat jumlah volume total sebanyak 5ml.

- Untuk membuat larutan 25% sebanyak 5 ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak: $100\% \times V1 = 25\% \times 5\text{ ml}$

$$V1 = 1,25\text{ ml}$$

Kemudian larutan stok 1,25ml dilarutkan dengan 3,75 ml aquades steril, sehingga didapat jumlah volume total sebanyak 5 ml.

- Untuk membuat larutan 27,5% sebanyak 5ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak: $100\% \times V1 = 27,5\% \times 5\text{ ml}$

$$V1 = 1,375\text{ ml}$$

Kemudian larutan stok 1,375 ml dilarutkan dengan 3,625 ml aquades steril, sehingga didapat jumlah volume total sebanyak 5 ml.

- Untuk membuat larutan 30% sebanyak 5 ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak: $100\% \times V1 = 30\% \times 5\text{ ml}$

$$V1 = 1,5\text{ ml}$$

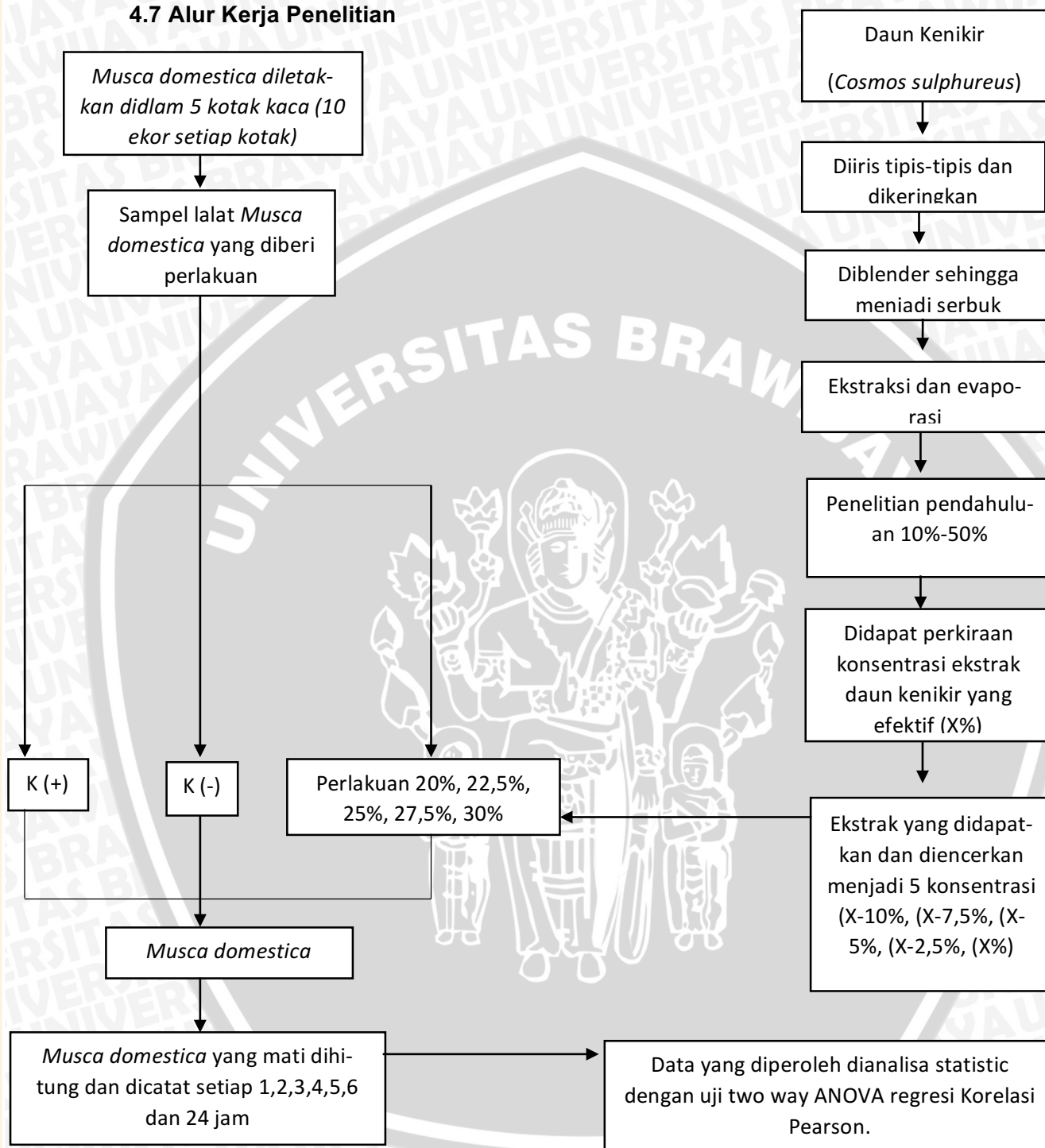
Kemudian larutan stok 1,5 ml dilarutkan dengan 3,5 ml aquades steril, sehingga didapat jumlah volume total sebanyak 5 ml.

4.6.2 Cara Kerja Penelitian

1. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang berdinding kaca dan berbentuk kubus berukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm diletakkan dalam ruang dengan temperatur kurang lebih 2°C dan tingkat kelembab antara 60-70%.
2. Siapkan larutan ekstrak daun kenikir dengan sebagai konsentrasi.
3. Pada saat akan digunakan, ambil ekstrak daun kenikir secukupnya, insektisida malathion 0,28% sebagai kontrol positif, dan *aquadest* sebagai kontrol negatif untuk dimasukkan dimasing-masing sprayer
4. Melakukan penelitian pendahuluan dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%. (hasil lampiran 1)
5. Didapatkan konsentrasi yang efektif (X)
6. Selanjutnya melakukan penelitian menggunakan konsentrasi yang didapat dari penelitian pendahuluan dengan pengulangan sebanyak 4 kali.
7. Isi spreay disemprotkan pada semua sisi dinding kaca dan masing-masing kandang sampai habis
8. Kandang 1 disemprot dengan menggunakan malathion 0,28% sebanyak 4,0 ml sebagai kontrol positif (WHO, 2006).
9. Kandang 2 disemprot dengan menggunakan *aquadestt* sebanyak 4,0 ml sebagai kontrol negatif (WHO, 2006)
10. Kandan 3 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi (X-10%) sebanyak 4,0 ml.

11. Kandang 4 disemprot menggunakan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi (X-7,5%) sebanyak 4,0 ml
12. Kandang 5 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi (X-5%) sebanyak 4,0 ml
13. Kandang 6 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi (X-2,5%) sebanyak 4,0 ml
14. Kandang 7 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi (X%) sebanyak 4,0 ml
15. Kemudian, dibiarkan selama 5 menit sehingga larutan yang disemprot merata pada seluruh ruang kandang.
16. Setelah 5 menit, lalat *Musca domestica* yang akan diteliti sebanyak 10 ekor dimasukkan kedalam masing-masing kandang
17. Jumlah lalat yang mati pada setiap perlakuan dihitung selama 1 jam hingga 6 jam dan seterusnya pada jam ke 24.

4.7 Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Kerja Penelitian

Keterangan :

K (+) : Perlakuan dengan Malathion 0,28 % (Kontrol Positif)

K (-) : Perlakuan dengan larutan *Aquadest* (Kontrol Negatif)

P₁ : Perlakuan ekstrak dengan konsentrasi (X-10%)

P₂ : Perlakuan ekstrak dengan konsentrasi (X-7,5%)

P₃ : Perlakuan ekstrak dengan konsentrasi (X-5%)

P₄ : Perlakuan ekstrak dengan konsentrasi (X-2,5%)

P₅ : Perlakuan ekstrak dengan konsentrasi (X%)

4.8 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan kedalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan, jumlah lalat *Musca domestica* yang mati dan waktu pengulangan. Dari table tersebut, hasil dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik.

4.9 Metode Pengukuran Potensial Insektisida

Presentase potensi insektisida ekstrak etanol daun kenikir dihitung menggunakan formula abbot dengan rumus :

$$A_1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100\%$$

Keterangan :

A₁ : presentase kematian lalat setelah koreksi / potensi

A : presentase kematian lalat uji

B : presentase lalat kontrol negative

4.10 Pengolahan dan Analisa Data Penelitian

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan perhitungan jumlah lalat yang mati untuk tiap tiap konsentrasi larutan uji ekstrak daun kenikir. Potensi insektisida dihitung menggunakan rumus abbot. Analisis data dilakukan dengan uji *two-way Anova* dengan syarat uji berikut :

1. Syarat yang digunakan uji *two-way Anova* adalah lebih dari dua kelompok dan tidak berpasangan.
2. Sebaran data setiap perlakuan harus normal.
3. Varians data tiap perlakuan adalah homogen

selanjutnya data dianalisis menggunakan uji beda non parametrik *Uji Post Hoc*, maka akan diketahui perbedaan potensi diantara berbagai perlakuan. Dalam penelitian ini, besar interval kepercayaan yang dipakai adalah 95% untuk tingkat signifikasi (α) = 0.05. Uji statistik korelasi bertujuan untuk menentukan kekuatan dan arah hubungan antara ekstrak *Malathion* daun kenikir (*Cosmos sulphureus*) terhadap jumlah kematian lalat rumah (*Musca domestica*). Interpretasi nilai korelasi adalah sebagai berikut (Arikunto, 2010):

Tabel 4.1 Interpretasi Nilai Korelasi

Besarnya Korelasi	Interpretasi
0.80 sampai dengan 1.00	Tinggi
0.60 sampai dengan 0.80	Cukup
0.40 sampai dengan 0.60	Agak Rendah
0.20 sampai dengan 0.40	Rendah
0.00 sampai dengan 0.20	Sangat Rendah