

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true eksperimental-post test only controlling group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan potensi beberapa konsentrasi ekstrak daun tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) sebagai insektisida terhadap kematian lalat *Musca domestica* sp. dengan metode semprot.

4.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah *Musca domestica* sp. Penelitian ini meliputi 5 perlakuan yang didapat setelah penelitian pendahuluan dan 2 kontrol pada penelitian pendahuluan guna mendapatkan kesesuaian konsentrasi efektif yang menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% didapatkan perlakuan konsentrasi efektif ekstrak etanol daun tomat pada konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20% oleh karena itu pada penelitian utama digunakan:

- Kontrol negatif : Disemprot dengan akuades steril
- Kontrol positif : Disemprot dengan komponen malathion 0,28%
- Perlakuan 1 : Disemprot dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 10%
- Perlakuan 2 : Disemprot dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 12,5%

- Perlakuan 3 : Disemprot dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 15%
- Perlakuan 4 : Disemprot dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 17,5%
- Perlakuan 5 : Disemprot dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 20%

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah lalat *Musca domestica* sp. dewasa yang diperoleh dari penangkapan di halaman Universitas Brawijaya Malang dan memenuhi kriteria inklusi seperti di bawah ini :

1. Masih hidup
2. Masih bergerak secara aktif

Sedangkan yang termasuk kriteria eksklusi penelitian ini adalah lalat *Musca domestica* sp. dewasa yang mati selama percobaan dilakukan dan tidak aktif bergerak.

Sampel yang diambil adalah sejumlah lalat *Musca domestica* sp. dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan telah diseleksi.

4.4 Pengulangan dan Jumlah Sampel

4.4.1 Jumlah Pengulangan

Penelitian terdiri dari 7 kelompok coba dengan rincian sebagai berikut : 5 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) dalam konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20%. Kemudian ditambah 2 kelompok kontrol yaitu kontrol negatif yang berisi akuades dan kontrol

positif yang berisi malathion 0,28%. Sebelumnya telah dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi larutan ekstrak daun tomat yang akan digunakan dalam penelitian ini. Rumus untuk estimasi banyaknya pengulangan yaitu (Solimun, 2001) :

Tabel 4.1 Rumus Pengulangan

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

Berdasarkan rumus tersebut, penghitungan dasar banyaknya pengulangan adalah sebagai berikut:

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3$$

Keterangan : p = jumlah perlakuan
n = jumlah pengulangan

Dari hasil perhitungan di atas didapatkan bahwa banyaknya pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini minimal tiga kali. Sehingga ditetapkan untuk jumlah pengulangan sebanyak lima kali.

4.4.2 Jumlah Sampel

Dalam setiap perlakuan pada penelitian ini menggunakan 10 ekor lalat *Musca domestica* sp. Bila setiap kali percobaan membutuhkan 5 kali perlakuan dan 1 kontrol negatif serta 1 kontrol positif menggunakan 10 ekor lalat dan membutuhkan 5 kali pengulangan serta 1 kali penelitian pendahuluan dengan jumlah lalat 70 ekor. Sehingga jumlah lalat *Musca domestica* sp. yang dibutuhkan adalah $10 \times 7 \times 5 + 70 = 420$ ekor lalat *Musca domestica* sp.

4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada tahun 2015.

4.6 Definisi Operasional

1. Serbuk daun tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) sebanyak 100 gram yang didapat dari Materia Medika Batu-Malang, berasal dari daun tomat yang telah dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung dan kemudian diblender
2. Ekstrak daun tomat adalah hasil ekstraksi berupa minyak kental yang diperoleh dari akhir proses evaporasi (setelah pelarut etanolnya dihilangkan).
3. Lalat Rumah yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sekitar Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya lalat yang tetap hidup yang akan dipakai sebagai sampel.
4. Metode semprot yang digunakan dalam penelitian dilakukan dengan menyemprotkan ekstrak daun tomat berbagai konsentrasi yang dimasukkan dalam botol *sprayer* pada dinding-dinding kandang lalat rumah dari jarak 25 cm yaitu pada lubang untuk tempat tangan masuk ke kandang tersebut.
5. Potensi insektisida ditentukan dengan kematian lalat yang ditandai saat lalat jatuh ke dasar kandang dan tidak aktif atau tidak bergerak pada saat diberikan rangsangan sentuh yang selanjutnya diolah dengan menggunakan formula *Abbot*.
6. Kontrol negatif berupa akuades yang tidak memiliki potensial sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica* sp.

7. Kontrol positif berupa malathion 0,28% yang sebelumnya telah terbukti memiliki potensial sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica* sp.
8. Kandang perlakuan adalah kotak berbentuk bujur sangkar, terbuat dari bahan kaca yang berukuran 25x25x25 cm³ yang salah satu dindingnya dilubangi dan ditutup dengan menggunakan kain kasa. Kandang kaca yang diperlukan untuk penelitian ini adalah sebanyak lima buah.

4.7 Variabel Penelitian

4.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak daun tomat dengan 5 konsentrasi yaitu : konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20%. Setelah sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan ekstrak daun tomat dengan 5 konsentrasi yaitu 10 %, 20%, 30%, 40%, 50%.

4.7.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah lalat rumah yang mati setelah dimasukkan dalam kandang yang telah disemprot dengan pemberian insektisida ekstrak daun tomat dengan konsentrasi yang berbeda. Lalat rumah mati adalah lalat yang tidak aktif bergerak dengan pemberian rangsang sentuhan.

4.8 Bahan dan Instrumen Penelitian

4.8.1 Bahan Penelitian

4.8.1.1 Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Tomat (*Solanum lycopersicum* Linn)

- Daun Tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) yang telah dikeringkan

- Kertas saring
- Etanol 96%
- Akuades

4.8.1.2 Bahan Persiapan Lalat *Musca domestica* sp.

- Larutan glukosa 10% digunakan untuk makanan lalat *Musca domestica* sp. selama penelitian

4.8.1.3 Bahan Uji Potensi Ekstrak Daun Tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) terhadap Lalat *Musca domestica* sp.

- Larutan ekstrak daun tomat dengan konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20% sebanyak 3 ml.
- Lalat *Musca domestica* sp.
- Akuades steril
- Larutan malathion 0,28%

4.8.2 Instrumen Penelitian

4.8.2.1 Instrumen Pembuatan Ekstrak Daun Tomat

- Botol hasil ekstrak
- Oven / di jemur dibawah matahari
- Blender untuk menghaluskan daun tomat
- Timbangan
- Gelas Erlenmeyer
- Corong gelas
- Labu evaporator
- Labu penampung etanol

- Evaporator
- *Rotatory evaporator*
- Selang *water pump*
- *Water pump*
- Water bath
- *Vacuum pump*

4.8.2.2 Instrumen Persiapan Lalat *Musca domestica* sp.

- Sangkar kaca (25 cm x 25 cm x 25 cm)
- Jaring serangga

4.8.2.3 Instrumen Uji Potensi Insektisida Ekstrak Daun Tomat Terhadap Lalat *Musca domestica* sp.

- Sangkar kaca (25 cm x 25 cm x 25 cm)
- *Sprayer*
- Timer
- Gelas ukur

4.9 Prosedur Penelitian

4.9.1 Pembuatan Ekstrak Daun Tomat

Pada penelitian ini, bahan uji yang digunakan adalah ekstrak daun tomat. Pada ekstraksi daun tomat, digunakan etanol sebagai pelarut karena lebih selektif, bakteri sulit tumbuh dalam etanol diatas 20%, tidak beracun, netral dan absorbsinya baik. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinson, steroid, flavonoid.

a. Proses Pengeringan

- Mencuci bersih daun tomat (sampel basah) yang akan dikeringkan.
- Memotong kecil-kecil
- Menghasilkan daun tomat yang telah dipotong kecil-kecil lalu dioven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air)

b. Proses Ekstraksi

- Menghaluskan sampel dengan blender.
- Menghasilkan bubuk daun tomat lalu ditimbang dengan menggunakan timbangan kemudian dimasukkan dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter.
- Merendam di dalam larutan etanol 96% sampai volume 900 ml dan dikocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit)
- Mendinginkan selama 1 malam sampai mengendap.

c. Proses Evaporasi

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

- Memasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30⁰-40⁰ terhadap meja percobaan.
- Memindahkan hasil rendaman etanol yang berupa larutan ke labu pemisah ekstraksi.
- Menghubungkan labu pemisah ekstraksi pada bagian bawah evaporator, pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik, pendingin spiral dihubungkan dengan *water pump* dengan selang plastik yang dialiri air dingin.

- Menempatkan *water pump* dalam bak yang berisi akuades, *water pump* dihubungkan dengan sumber listrik sehingga akuades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
- Meletakkan satu set evaporasi sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam akuades pada *water bath*.
- Menghubungkan vakum dan *water bath* dengan sumber listrik dan dinaikkan suhu pada *water bath* sekitar 70°C (sesuai dengan titik didih etanol).
- Membiarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam.
- Melanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 1-2 hari.
- Menggunakan hasil akhir yang memiliki konsentrasi 100% ini untuk digunakan dalam percobaan.
- Menimbang hasil ekstrak ini dengan timbangan analitik dan disimpan dalam lemari es untuk memperlambat kerusakan.

4.9.2 Persiapan Lalat *Musca domestica* sp.

Lalat rumah (*Musca domestica* sp.) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari area sekitar Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sejumlah 420 ekor. Lalat rumah yang digunakan adalah lalat yang hidup dan masih aktif bergerak, penyiapan sample seperti ini merupakan sample inklusi. Setelah itu lalat *Musca domestica* sp. dimasukkan ke dalam kandang berukuran 25x25x25

cm³ di Laboratorium Parasitologi Fakultas kedokteran Brawijaya untuk selanjutnya dilakukan penelitian.

4.9.3 Persiapan larutan uji

Penelitian ini terdapat 2 kelompok yakni kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan, untuk kelompok kontrol digunakan akuades steril sebagai kontrol negatif serta malathion 0,28% sebagai kontrol positif karena kerja malathion yang dapat menghambat enzim asetilkolineras dengan cepat.

Sedangkan untuk kelompok perlakuan terdapat 5 macam perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda. Dosis yang akan dipergunakan setelah dilakukan penelitian pendahuluan adalah 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%. Untuk mendapatkan dosis yang diinginkan tersebut digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

Tabel 4.2 Rumus Pengenceran

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

Keterangan :

- M₁ : Konsentrasi ekstrak daun tomat
- V₁ : Volume ekstrak daun tomat
- M₂ : Konsentrasi ekstrak daun tomat yang diinginkan
- V₂ : Volume campuran ekstrak daun tomat

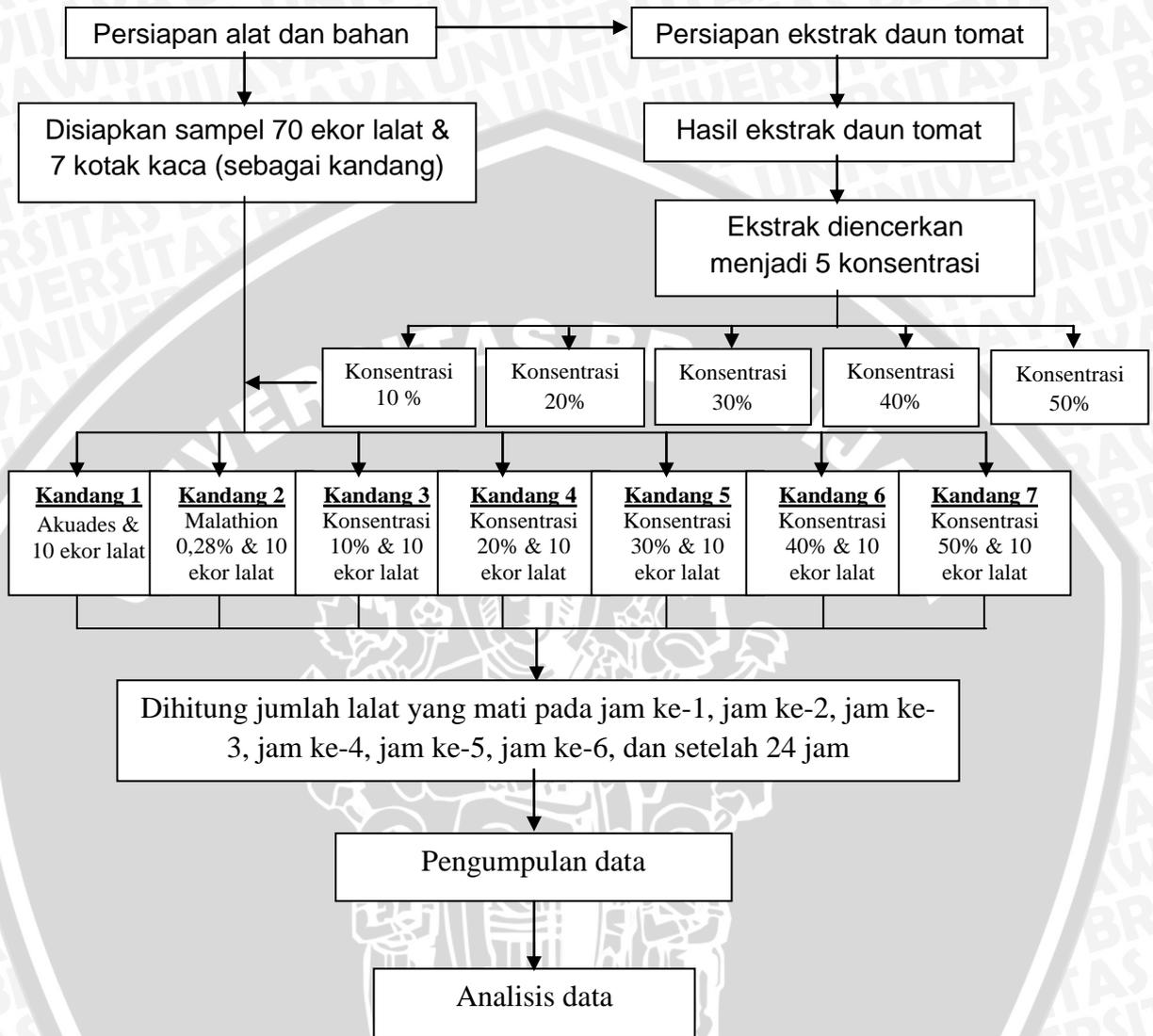
4.9.4 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bersifat *trial and error* yang bertujuan untuk memperoleh konsentrasi minimal ekstrak daun tomat yang dapat membunuh lalat *Musca domestica* sp. dalam jumlah maksimal. Pemilihan konsentrasi ekstrak daun tomat yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Dari penelitian pendahuluan didapatkan konsentrasi efektif yaitu 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%.

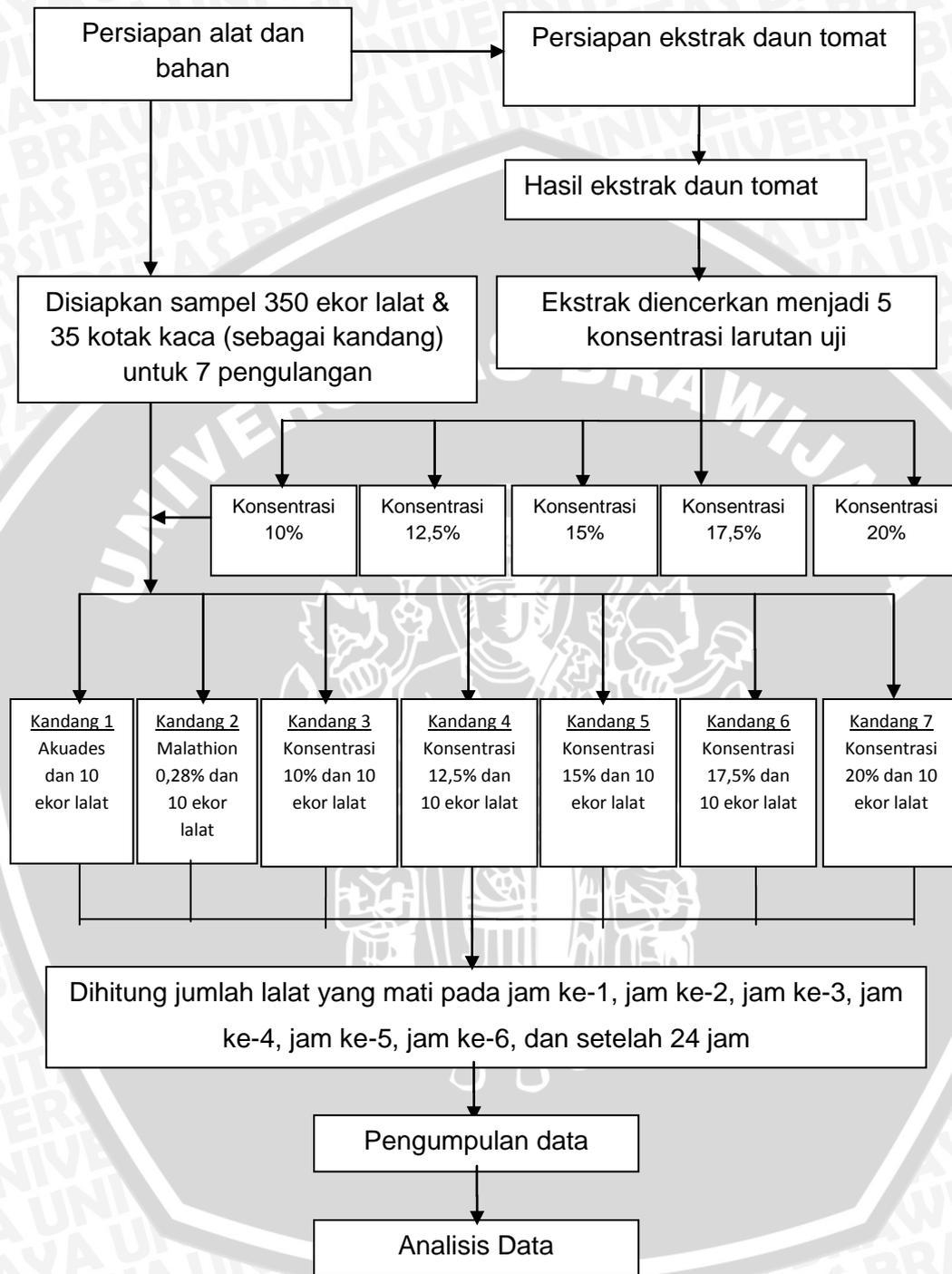
4.9.5 Pelaksanaan Penelitian

1. Mempersiapkan kandang untuk tempat perindukan lalat *Musca domestica* sp. berukuran 25x25x25 cm³. Siapkan larutan dengan konsentrasi yang didapat dari penelitian pendahuluan yaitu : 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20% serta kontrol positif dan kontrol negatif.
2. Menyiapkan makanan untuk lalat *Musca domestica* sp. berupa air gula yang diletakkan di kapas dan plastik, kemudian dimasukkan ke dalam kandang setelah kandang di semprot.
3. Menyemprot kandang 1 dengan akuades sebagai kontrol negatif.
4. Menyemprot kandang 2 dengan malathion 0,28% sebagai kontrol positif.
5. Menyemprot kandang 3 dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 10%
6. Menyemprot kandang 4 dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 12,5%
7. Menyemprot kandang 5 dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 15%
8. Menyemprot kandang 6 dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 17,5%
9. Menyemprot kandang 7 dengan ekstrak daun tomat konsentrasi 20%
11. Melakukan pengamatan setiap jam ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, dan jam ke-24.
Hitung jumlah lalat *Musca domestica* sp. yang mati.
12. Melakukan pengulangan sebanyak 5 kali untuk setiap perlakuan.

4.9.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian Pendahuluan



Gambar 4.2 Diagram Alur Penelitian Utama

4.10 Pengumpulan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah jumlah lalat yang mati untuk setiap perlakuan setelah pengamatan waktu. Data kematian lalat *Musca domestica* sp. akan diolah dengan menggunakan formula *Abbot* menjadi data potensi insektisida yang disajikan dalam bentuk tabel.

Tabel 4.3 Formula Abbot

$$\frac{X - Yx}{100 - Y} 100\%$$

Keterangan :

- X = persentase jumlah lalat *Musca domestica* sp. yang mati dengan menggunakan ekstrak daun tomat konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%. atau berdasarkan masing-masing perlakuan.
- Y = persentase jumlah lalat *Musca domestica* sp. yang mati pada kontrol negatif.

4.11 Metode Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik SPSS versi 20 untuk windows. Sebelum dianalisis dengan *One-way ANOVA* dilakukan beberapa test sebagai syarat yaitu uji distribusi data dan uji homogenitas data. *Test of homogeneity of variance* menunjukkan data memiliki varian yang homogen atau tidak homogen dan dengan uji statistik *Kolmogorov-Smirnov*. Apabila data menunjukkan distribusi yang normal dan juga kedua syarat terpenuhi maka *One-way ANOVA* dapat digunakan untuk menganalisa data. Setelah mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan maka dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui perbandingan berbeda nyata atau tidak antara masing-masing komponen lama waktu dan konsentrasi. Jika salah satu syarat atau kedua syarat tidak terpenuhi maka *Ona-way ANOVA*

tidak dapat digunakan dan selanjutnya data dianalisis menggunakan uji beda non parametrik *Kruskal Wallis*. Maka akan diketahui perbedaan potensi diantara berbagai perlakuan. Dalam penelitian ini, besar interval kepercayaan yang dipakai adalah 95% untuk tingkat signifikansi (α) = 0.05. Uji statistik korelasi bertujuan untuk menentukan kekuatan dan arah hubungan antara ekstrak daun tomat (*Solanum lycopersicum* Linn) terhadap jumlah kematian lalat *Musca domestica* sp.

