

BAB 4

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 insektisida ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) terhadap lalat rumah (*Musca domestica*)

4.2. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah semua lalat dewasa, baik jantan maupun betina.

Penelitian ini meliputi tiga perlakuan dan dua kontrol, yaitu :

- a. Kontrol negatif : Disemprot dengan aquades
- b. Kontrol positif : Disemprot dengan insektisida kimia yaitu malathion 0,28%
- c. Perlakuan 1 : Disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 15%
- d. Perlakuan 2 : Disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 20%
- e. Perlakuan 3 : Disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25%

Pada penelitian ini dilakukan pengulangan (n) pada masing-masing perlakuan.

Jumlah pengulangan dihitung berdasarkan rumus :

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

(Hanafiah, 1995)

Keterangan : n= jumlah pengulangan pada masing-masing perlakuan

P= jumlah perlakuan

Dalam penelitian ini ada 5 perlakuan yang berbeda sehingga didapatkan :

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

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

$$5n - 5 \geq 16$$

$$n \geq 4,2 \approx 4 \text{ kali}$$

Jadi jumlah pengulangan yang diperlukan untuk masing-masing perlakuan minimal 4 kali.

Besar sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini dihitung berdasarkan rumus:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

(Supranto, 2000 dalam Suyatno, 2010)

Keterangan: t = jumlah sampel

r = jumlah pengulangan

Dalam penelitian ini diperlukan 4 kali pengulangan, maka:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(t-1)(4-1) \geq 15$$

$$(t-1)3 \geq 15$$

$$t-1 \geq 5$$

$$t \geq 6$$

Jadi besar sampel yang digunakan untuk setiap perlakuan minimal adalah 6 ekor lalat. Pada penelitian ini digunakan 10 ekor lalat. Jumlah lalat rumah (*Musca domestica*) yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 10 ekor x 5 kelompok coba x 4 pengulangan, sehingga total berjumlah 200 ekor.

4.3. Variabel Penelitian

Variabel dari penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel tergantung.

- Variabel bebas : konsentrasi dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*)
- Variabel tergantung : jumlah lalat rumah (*Musca domestica*) dewasa yang mati akibat dari variabel bebas

4.4. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun jambu biji dibuat melalui proses maserasi daun jambu biji dengan etanol 80%, kemudian dilakukan proses evaporasi. Daun jambu biji segar dipetik di lingkungan sekitar Perumahan Bukit Cemara Tujuh Malang.
2. Lalat rumah (*Musca domestica*) yang mati adalah lalat yang jatuh, tidak mampu bergerak secara aktif, dan tidak dapat bergerak meskipun diberi rangsang berupa sentuhan dengan batang lidi
3. Identifikasi morfologi Lalat rumah (*Musca domestica*) adalah yang tubuhnya berwarna cokelat keabu-abuan dengan garis hitam abu-abu pada *thorax* nya, tubuh relatif lunak, dengan antena pendek dan mata majemuk yang besar, ukurannya berkisar antara $\frac{1}{4}$ sampai $\frac{1}{3}$ inchi. Terdapat dua pasang sayap pada *thorax* dan *abdomen* biasa berwarna abu-abu dengan garis-garis atau bercak oranye
4. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah malathion 0,28% (Ahmad, 2008)
5. Kandang lalat berupa kotak kaca berukuran 25cm x 25cm x 25cm (Ahmad, 2008). Di salah satu sisi kandang terdapat lubang yang ditutup dengan kain kasa yang berfungsi sebagai pintu kandang.
6. Jumlah larutan yang disemprotkan ke dalam masing-masing kandang adalah 3,5 ml (Chocoote, 2004 dalam Humaira, 2011)
7. Uji potensi insektisida adalah uji yang bertujuan untuk menetapkan potensi ekstrak dengan mengukur kemampuannya dalam membunuh serangga tertentu

4.5. Lokasi dan Waktu Penelitian

- a. Proses ekstraksi dilakukan di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada bulan Juni 2013
- b. Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Juli-Agustus 2013

4.6. Instrumen Penelitian

4.6.1 Peralatan Penelitian

- a) Peralatan untuk pembuatan ekstrak daun jambu biji
 1. Blender
 2. Corong gelas
 3. Gelas ukur
 4. Labu erlenmeyer atau beaker glass (dengan volume 1 liter)
 5. 1 set alat evaporasi, terdiri dari: labu penampung pelarut, pendingin spiral, *rotary evaporator*, *waterbath* dan vakum, klem statis, selang plastik, *waterpump*, labu pemisah hasil ekstraksi, dan bak penampung
 6. Oven
 7. Kertas saring
 8. Wadah plastik transparan berpenutup rapat
- b) Peralatan untuk penangkapan lalat rumah (*Musca domestica*)
 1. Botol plastik air mineral 1500 ml
 2. Kantung plastik transparan
- c) Peralatan untuk uji potensi insektisida
 1. Kandang lalat berukuran 25cm x 25cm x 25cm
 2. *Sprayer*
 3. *Spuut* 10 cc dan 5 cc
 4. Tempat plastik kecil
 5. Piring kecil
 6. Kapas
 7. Timer
 8. Batang lidi

4.6.2 Bahan Penelitian

- a) Bahan untuk pembuatan ekstrak daun jambu biji
 1. Daun jambu biji segar

2. Etanol 80%
3. Aquades
- b) Bahan untuk penangkapan Lalat rumah (*Musca domestica*)
 1. Sampah organik
- c) Bahan untuk uji potensi insektisida
 1. Lalat rumah (*Musca domestica*)
 2. Ekstrak daun jambu biji dengan 3 konsentrasi berbeda
 3. Nutrisi lalat berupa larutan glukosa
 4. Aquades
 5. Malathion 0,28%

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji dengan Teknik Maserasi

- a. Daun jambu biji segar dicuci kemudian dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung atau dapat dikeringkan dengan menggunakan oven.
- b. Daun jambu biji yang telah kering diblender sehingga didapatkan serbuk jambu biji. Serbuk daun jambu biji kemudian ditimbang sejumlah 100 gram.
- c. Serbuk daun jambu biji dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* ukuran 1 liter.
- d. 900 mililiter etanol dituangkan ke dalam *beaker glass* sampai serbuk dalam gelas terendam etanol. Didiamkan sampai rendaman berwarna coklat (\pm dua hari).
- e. Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain dan *beaker glass* diisi kembali dengan etanol yang baru.
- f. Ekstraksi dihentikan jika etanol tetap berwarna jernih yang berarti etanol sudah tidak menyerap sari dari daun jambu biji (\pm satu minggu).
- g. Hasil ditempatkan dalam botol kemudian dievaporasi untuk memisahkan ekstrak daun jambu biji dengan etanol.

4.7.2 Proses Evaporasi

- a. Satu set alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40° terhadap meja percobaan. Urutan rangkaian dari bawah ke atas: *waterbath*, labu pemisah ekstraksi, *rotary evaporator*, dan pendingin spiral. Pendingin spiral terhubung dengan vakum dan *waterpump* melalui selang plastik dan juga terhubung dengan labu penampung pelarut.
- b. *Waterbath* diisi dengan aquades sedangkan bak penampung diisi dengan aquades dingin atau es.
- c. Hasil ekstraksi dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- d. *Waterpump* ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, *waterpump* dihubungkan dengan sumber listrik. Semua komponen alat dinyalakan (*rotary evaporator*, *waterpump*, pemanas *waterbath*, dan vakum). Pemanas *waterbath* dipanaskan dengan suhu 40°C. Hasil ekstraksi akan mendidih dan pelarut etanol di dalamnya menguap kemudian terkondensasi oleh pendingin spiral dan masuk ke dalam labu penampung pelarut. Dengan proses ini etanol akan terpisah dari hasil ekstraksi sehingga didapatkan ekstrak murni daun jambu biji.
- e. Proses ini dibiarkan berjalan sehingga hasil ekstraksi yang dievaporasi menjadi kental dan volumenya berkurang dan tidak ada etanol yang menetes ke dalam labu penampung pelarut (\pm 2-3 jam). Hasil akhir inilah yang akan digunakan dalam penelitian.

4.7.3. Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji dalam Berbagai Konsentrasi

Hasil dari pembuatan ekstrak daun jambu biji di atas memiliki konsentrasi 100%. Untuk mendapatkan berbagai nilai konsentrasi yang diinginkan, dilakukan pengenceran sesuai rumus berikut :

$$\% = \frac{w}{V} \times 100$$

(Seager and Slabaugh, 2010)

Keterangan: % = konsentrasi ekstrak
w = ekstrak yang dibutuhkan (gram)
V = volume total yang diinginkan (mililiter)

4.7.4. Persiapan Larutan untuk Perlakuan

Dalam penelitian ini terdapat 2 kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dibagi 2, kontrol negatif dan kontrol positif. Untuk kelompok kontrol negatif digunakan aquades dan untuk kontrol positif digunakan malathion 0,28%. Untuk kelompok perlakuan digunakan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 15%, 20% dan 25%.

4.7.5. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui interval konsentrasi yang tepat pada kelompok coba sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya. Penentuan konsentrasi pada penelitian pendahuluan bersifat *trial and error*. Pada penelitian pendahuluan digunakan konsentrasi ekstrak 25% dan 50%. Jumlah lalat untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 10 ekor. Dari penelitian pendahuluan didapatkan konsentrasi minimal yang dapat membunuh 100% lalat dalam 24 jam yaitu 25%. Karena jumlah lalat yang mati dalam 6 jam melebihi setengahnya maka konsentrasi diturunkan menjadi 20%. Kemudian dilakukan *step up* dan *step down* dari konsentrasi tersebut sebagai konsentrasi yang akan digunakan dalam eksperimen sesungguhnya yaitu 15% dan 25%.

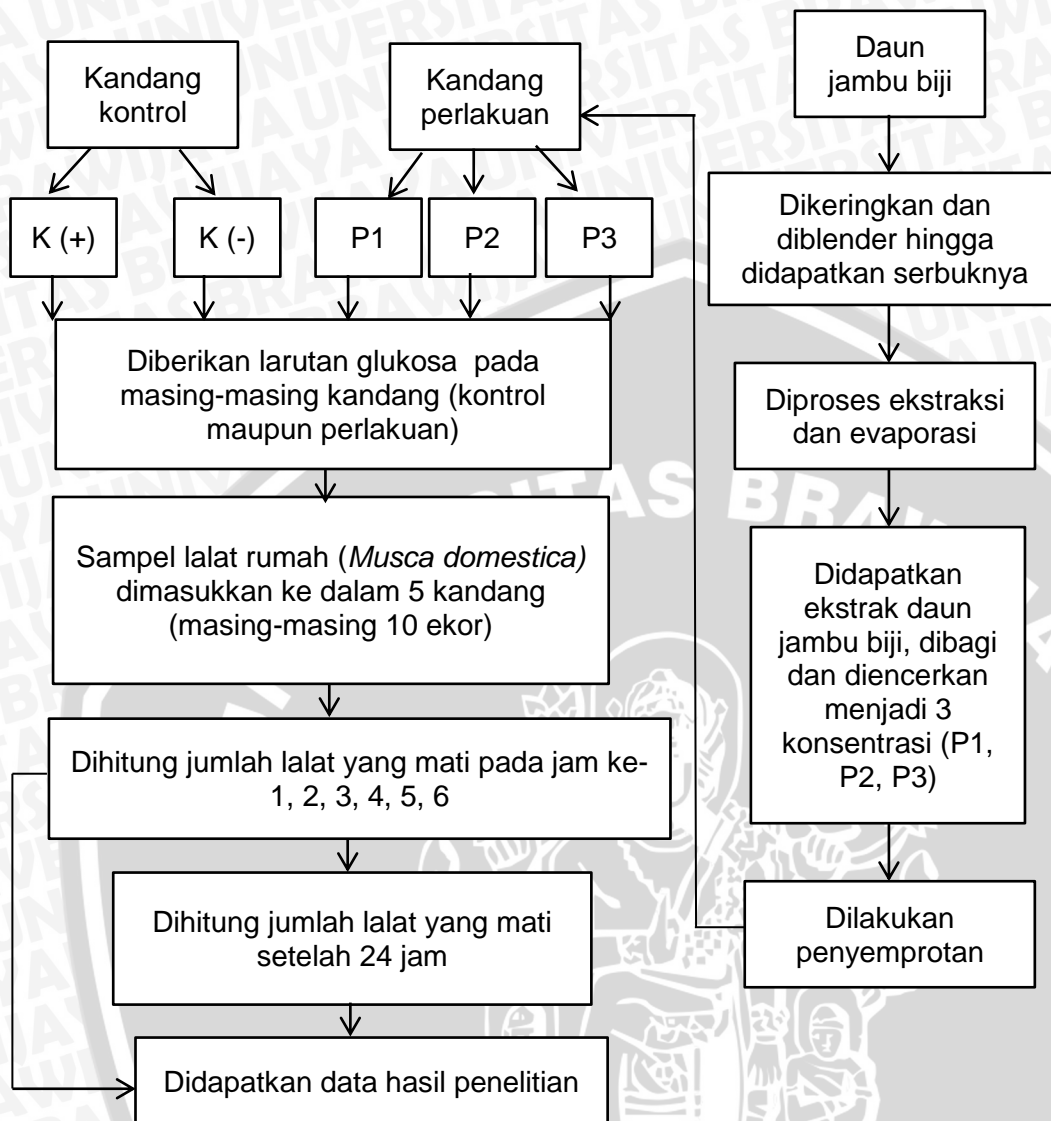
4.7.6. Penangkapan Lalat rumah (*Musca domestica*)

Lalat rumah (*Musca domestica*) yang digunakan dalam penelitian ini ditangkap dengan menggunakan umpan berupa sampah organik yang diletakkan dalam botol plastik air mineral 1500 ml. Kemudian bila ada lalat yang masuk dalam botol, lalat ditangkap dengan menggunakan plastik yang ditutupkan pada bagian mulut botol.

4.7.7. Uji Insektisida Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji terhadap *Musca domestica*

- a. Ekstrak daun jambu biji dibuat sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan dalam penelitian pendahuluan. Ekstrak dimasukkan dalam spray.
- b. Kandang 1 disemprot dengan aquades sebanyak 3,5 ml (sebagai kontrol negatif)
- c. Kandang 2 disemprot dengan malathion 0,28% sebanyak 3,5 ml (sebagai kontrol positif)
- d. Kandang 3 disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 15% sebanyak 3,5 ml
- e. Kandang 4 disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 20% sebanyak 3,5 ml
- f. Kandang 5 disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25% sebanyak 3,5 ml
- g. Kemudian masing-masing kandang diberi larutan glukosa di atas piring kecil yang diberi kapas di atasnya sebagai nutrisi lalat
- h. 5 menit kemudian 10 lalat dimasukkan ke dalam masing-masing kandang
- i. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan penghitungan lalat yang mati setiap jam mulai jam ke-1 sampai dengan jam ke-6 dan jam ke-24
- j. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali pada masing-masing perlakuan

4.8. Diagram Alur Kerja



Keterangan :

K (+) : Kontrol positif, disemprot dengan malathion 0,28%

K (-) : Kontrol negatif, disemprot dengan aquades

P1 : Perlakuan 1, disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 15%

P2 : Perlakuan 2, disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 20%

P3 : Perlakuan 3, disemprot dengan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25%

4.9. Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan penghitungan jumlah lalat rumah (*Musca domestica*) yang mati untuk masing-masing konsentrasi larutan uji ekstrak daun jambu biji dalam 7 interval waktu pengamatan.

Formula *Abbot* digunakan untuk mengetahui potensi insektisida ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*).

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

(Abbot, 1925 dalam Lacey, 2007)

A = % kematian setelah dikoreksi

B = % kematian lalat uji

C = % kematian lalat kontrol negatif

Hasil penelitian ditabulasi dan disajikan dalam bentuk tabel. Kemudian dianalisis dengan analisa statistik SPSS dengan metode uji ANOVA. Uji ANOVA bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna jumlah kematian lalat dari dua kelompok atau lebih. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda bermakna. Berikutnya dilakukan uji korelasi untuk mengetahui melihat derajat keeratan hubungan dan arah antar variabel dan uji regresi untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi dan lama waktu pengamatan terhadap potensi ekstrak daun jambu biji.