BAB 4

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 dan membandingkan efek ekstrak bunga lawang (Illicium verum) sebagai insektisida terhadap lalat Musca domestica.

4.2 Populasi Dan Sampel

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

- semua lalat Musca domestica yang hidup
- aktif bergerak

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

Sampel yang diambil adalah sejumlah lalat *Musca domestica*, diambil dari tempat perindukan yang telah diseleksi dari tempat habitatnya yaitu di sekitar Laboratorium Parasitologi UB. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif (tanpa ekstrak) yang diberi acetone 1%, 1 kelompok kontrol positif yang diberi malathion 0.28% dan 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan mewakili satu dosis (konsentrasi) ekstrak dengan jumlah sampel yang

sama. Jumlah lalat dalam tiap kelompok 10 ekor lalat *Musca domestica*. Jumlah pengulangan penelitian ditentukan dengan rumus berikut:

P = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan tiap sampel

Dalam penelitian ini diketahui perlakuan (p) = 5, maka pengulangan perlakuan dilakukan :

n
$$\geq$$
 4,2 (Tjokronegoro, 2001)

Maka dari hasil perhitungan didapatkan bahawa pengulangan yang dilakukan adalah 4 kali dengan konsentrasi dan larutan stok yang sama.

Jumlah lalat *Musca domestica* yang diperlukan dalam penelitian adalah (10 ekor x 4 pengulangan x 5 kelompok) = 200 ekor.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Juni 2013.

4.4. Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung (Dependent)

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah lalat *Musca domestica* yang mati.

4.4.2 Variabel Bebas (Independent)

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis atau konsentrasi ekstrak bunga lawang (Illicium Verum) dengan dosis dalam %.

4.4.3 Definisi operasional

- Bunga lawang yang dipakai dalam penelitian ini adalah yang dibeli dari Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya (FPUB). Bunga lawang ini ditanam di lahan FPUB. Proses ekstraksi yang dipakai adalah ekstraksi mengunakan metanol dengan metode "Technique of Simple Extraction".
- Lalat yang digunakan diperoleh dari hasil penangkapan di lingkungan kampus Universitas Brawijaya yaitu dipancing untuk datang dengan memasukkan makanan yang sudah mulai membusuk ke dalam kantung plastik kosong. Setelah beberapa pasang lalat masuk ke dalam plastik, lalat Musca domestica dipindahkan ke botol media.
- Lalat Musca domestica diidentifikasi dengan cara melihat morfologinya yang paling menonjol pada abdomen iaitu warnanya abu-abu dengan garis-garis atau bercak-bercak orange dan mempunyai 4 garis longitudinal berwarna hitam pada dorsal toraks.

- Lalat mati: Apabila lalat disentuh dengan menggunakan pinset, lalat tidak bergerak.
- Efek insektisida: Efek yang ditimbulkan ekstrak bunga lawang terhadap kematian lalat.
- Uji potensi ekstrak bunga lawang yang dilakukan dilihat dari jumlah kematian lalat *Musca domestica* pada konsentrasi x%, y% dan z% (konsentrasi akan ditetapkan dengan penelitian pendahuluan) terhadap waktu yang diamati tiap 10 menit sampai 60 menit dan pada jam ke 6 dan 24 jam.
- MLD50 (Minimal Lethal Dose 50) adalah konsentrasi minimal ekstrak bunga lawang yang dapat menimbulkan kematian pada 50% lalat Musca domestica.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

Alat pembuatan ekstrak bunga lawang antara lain adalah blender, tabung untuk merendam bunga lawang yang sudah diblender, saringan, kertas saring, gelas ekstraksi (botol), neraca analitik, klem statis, oven, timbangan dan seperangkat alat evaporasi vakum yaitu rotary evaporator, pompa vakum, tabung pendingin, alat pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, labu penampung hasil evaporasi, labu penampung etanol, batu didih, cawan penguap, alat pemanas aquades (*water bath*), pipa plastik dan alat pembuatan larutan gula

4.5.2 Alat Dan Bahan Uji Potensi Ekstrak Bunga Lawang

Alat dan bahan yang diperlukan adalah bekas kaca berukuran 25cmx25cmx25cm, 5 sprayer, pinset, bekas plastik berisi larutan glukosa sebagai makanan lalat, ekstrak bunga lawang dan lalat *Musca domestica*.

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Ekstrasi dan Evaporasi Bunga Lawang

4.6.1.1 Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi bunga lawang dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan pelarut etanol 96%. Prosesnya adalah seperti berikut:

BRAWA

Masukkan 1 kilogram bunga lawang ke dalam botol lalu rendam dengan etanol. Pelarut etanol sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam botol hingga bunga lawang yang terbungkus kertas saring terendam dalam pelarut etanol. Biarkan sampai kurang lebih 2 hari. Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain. Ekstraksi dilakukan dengan beberapa kali penggantian etanol. Hentikan ekstraksi jika etanol dengan tempat menampung bunga lawang sudah jernih (setelah ±satu minggu). Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.6.1.2 Proses Evaporasi

Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40°, dari bawah ke atas; alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator* dan tabung pendingin. Selain tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan labu penampung hasil

penguapan. Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstrak, kemudian dirangkai kembali, *rotary evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum semua dinyalakan. Pemanas aquades dinyalakan pula sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut etanol mulai menguap. Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum. Proses ini ditunggu hingga hasil ekstraksi yang dievaporasi volumenya berkurang dan menjadi kental, setelah yang ditandai dengan batu-batu pengaduk yang ikut berputar, maka proses dapat dihentikan dan hasil evaporasi diambil. Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian di oven pada suhu 50-60°C selama 1-2 jam, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapat hasil ekstrak bunga lawang 100%. Ekstrak kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

Jumlah ekstrak bunga lawang yang diperoleh adalah 92cc dengan konsentrasi 100%.

4.6.2 Cara Pembuatan Larutan Stok

Ekstrak pekat yang tersimpan di kulkas disesuaikan suhunya dengan suhu kamar dengan cara membiarkan di udara kamar selama 15 menit. Penentuan konsentrasi pada studi penelitian pendahuluan bersifat *trial* dan *error* (teknis cobacoba). Konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%.

4.6.3 Pelaksanaan Penelitian

Larutan uji diambil dari larutan stok ekstrak bunga lawang dan disiapkan dalam berbagai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 20%, 30% dan 40%. Pembuatan dosis dengan cara pengenceran dari larutan stok 100 % adalah dengan menggunakan rumus berikut:

M1 x V1 = M2 x V2

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok

V2 : Volume larutan perlakuan (Lukito, 1998).

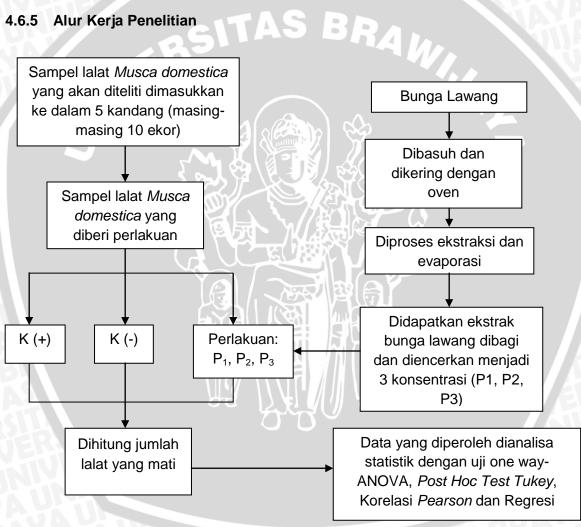
4.6.4 Cara kerja

Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang yang berukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm diletakkan dalam ruang dengan suhu kamar. Ekstrak bunga lawang dengan dosis 20%, 30% dan 40% dipersiapkan. Pada saat akan digunakan ambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi untuk setiap kelompok perlakuan) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer. Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing-masing kandang sampai habis.

Pada tiap-tiap kandang disemprot pada ke-enam sisinya. Kandang 1 menggunakan malathion 0.28% sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol positif, kandang 2 menggunakan acetone 1% sebanyak 3,5 ml sebagai kontrol negatif, kandang 3 menggunakan ekstrak bunga lawang dengan dosis 10% sebanyak 3,5 ml, kandang 4 menggunakan ekstrak bunga lawang dengan 20% sebanyak 3,5 ml dan kandang 5 menggunakan ekstrak bunga lawang 40% sebanyak 3,5 ml. Jumlah lalat yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap 10 menit selama 60 menit, seterusnya

pada jam ke 6 dan setelah 24 jam. Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan. Data jumlah lalat uji yang mati pada penyemprotan berbagai konsentrasi dan berbagai interval waktu pengamatan dianalisis untuk mengetahui besarnya potensi insektisida pada setiap konsentrasi.

4.6.5 Alur Kerja Penelitian



Keterangan:

K (+): Kontrol positif: Malathion 0.28% K (-) : kontrol negatif : Acetone 1%

P₁: Konsentrasi 10% P₂: Konsentrasi 20% : Konsentrasi 30%

4.7 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimasukkan kedalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah lalat yang mati, pengulangan, dan konsentrasi. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dilakukan uji statistik.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan perhitungan jumlah lalat yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak bunga lawang. Analisis data dilakukan dengan uji *One-way ANOVA* jika syarat uji parametrik (sebaran data normal dan data homogen) terpenuhi dan dilanjutkan *Post Hoc Test Tukey* dan uji korelasi *Pearson*.