

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris (*true-experimental-post test only control group design*) untuk mengetahui potensi insektisida ekstrak daun tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap lalat rumah (*Musca domestica*).

4.2 Populasi dan Sampel

Subjek penelitian adalah lalat rumah (*Musca domestica*) stadium dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi. Kriteria inklusi dalam penelitian adalah semua lalat rumah dewasa yang masih hidup dan aktif bergerak. Sedangkan kriteria eksklusi yang dimaksud adalah *Musca domestica* yang mati sebelum penelitian dan tidak termasuk kriteria inklusi. Penelitian ini meliputi 2 kontrol dan 3 perlakuan, yaitu:

- Kontrol negatif : Disemprot dengan aquades
- Kontrol positif : Disemprot dengan malathion 0,28%
- Perlakuan 1 : Disemprot dengan ekstrak daun sukun konsentrasi 30%
- Perlakuan 2 : Disemprot dengan ekstrak daun sukun konsentrasi 40%
- Perlakuan 3 : Disemprot dengan ekstrak daun sukun konsentrasi 50%

Perkiraan jumlah pengulangan yang diperlukan adalah:

Dengan: n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

P = jumlah perlakuan

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

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

$$5n - 5 \geq 16$$

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

Jadi, jumlah pengulangan yang diperlukan untuk penelitian ini minimal adalah 4 kali (Hanafiah, 1995).

Besar sampel yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah:

Dengan: t = jumlah sampel

r = jumlah pengulangan

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

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

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

$$3t - 3 \geq 15$$

$$3t \geq 18$$

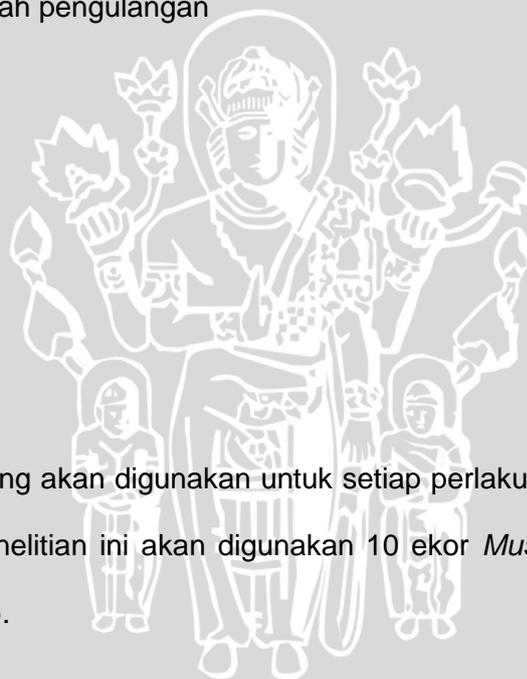
$$t \geq 6$$

Jadi, besar sampel yang akan digunakan untuk setiap perlakuan minimal adalah 6 ekor lalat. Pada penelitian ini akan digunakan 10 ekor *Musca domestica* per kandang (WHO, 1996).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi dari ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).



4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah jumlah *Musca domestica* yang mati setelah disemprot dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dengan waktu pelaksanaan pada bulan Juni – Juli 2013.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam 3 kelompok peralatan, yaitu: peralatan untuk membuat ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*), peralatan untuk menangkap *Musca domestica*, dan peralatan untuk uji potensi insektisida.

a) Peralatan untuk membuat ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*)

- Pisau
- Oven
- Blender
- Gelas ukur
- Labu *erlenmeyer*
- Kompor pemanas
- Kain saring
- Ekstraktor (peralatan maserasi)

- Evaporator
 - Neraca analitik
 - Botol plastik bertutup
- b) Peralatan untuk menangkap *Musca domestica*
- Kantong plastik transparan
 - Jaring
- c) Peralatan untuk uji potensi insektisida
- Kandang perlakuan ukuran 25 x 25 x 25 cm
 - Sprayer berlabel
 - Lidi
 - Kapas
 - Piring kecil/lepek
 - Timer

4.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini juga dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

- a) Bahan-bahan untuk pembuatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*)
- Daun sukun (*Artocarpus altilis*)
 - Aquades
 - Etanol 80%
- b) Bahan pada saat penampungan lalat
- Larutan glukosa 10%
- c) Bahan-bahan untuk uji potensi terhadap lalat

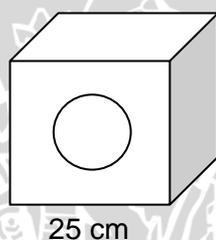
- Larutan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*)
- *Musca domestica* dewasa
- Aquades
- Malathion 0,28%
- Larutan glukosa

4.6 Definisi Operasional

- Ekstrak daun *Artocarpus altilis* adalah daun *Artocarpus altilis* yang diambil dari tanaman sukun di halaman Laboratorium Parasitologi dan halaman Laboratorium Farmako Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Proses ekstraksinya dilakukan berdasarkan tata cara pelaksanaan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 80%. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- *Musca domestica* adalah lalat dewasa sesuai morfologi dalam kondisi hidup dan sehat (aktif bergerak) yang ditangkap dari tempat pembuangan sampah di sekitar Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Lalat yang mati adalah lalat yang jatuh ke dasar kandang, tidak bergerak dan tidak menunjukkan respon sama sekali ketika dirangsang dengan lidi setelah dilakukan penyemprotan (Saleh, 1996).
- Potensi insektisida adalah rerata jumlah kematian lalat yang dihitung berdasarkan rumus potensi insektisida Abbott (WHO, 2006):

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

- Kontrol negatif adalah sekelompok *Musca domestica* dalam kandang yang disemprot dengan aquades tanpa pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).
- Kontrol positif adalah sekelompok *Musca domestica* dalam kandang yang disemprot dengan malathion 0,28% tanpa pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).
- Kandang lalat adalah kandang terbuat dari kaca berbentuk kubus dengan ukuran 25 x 25 x 25 cm. Pada salah satu sisi diberi lubang tertutup kassa untuk memasukkan lalat dan melakukan penyemprotan.



4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang akan digunakan dikeringkan dengan oven dan dihaluskan dengan alat penggiling/blender hingga menjadi serbuk halus. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Penggantian pelarut dalam suhu kamar dilakukan setiap 24 jam sebanyak tiga kali. Serbuk simplisia daun sukun dimasukkan ke dalam maserator kemudian ditambah pelarut etanol 80% sampai seluruh serbuk terendam dan didiamkan selama 24 jam sambil terus diaduk-aduk. Setelah 24 jam maserat ditampung dan dilakukan maserasi ulang. Maserat yang diperoleh

dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah dan suhu 40° sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan penguap yang telah ditara, lalu diuapkan di atas *waterbath* dan hasilnya ditimbang (Abdassah *dkk.*, 2009).

4.7.2 Pembuatan Larutan Stok

Ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang didapatkan dari hasil ekstraksi dan evaporasi adalah sebagai larutan stok awal dengan konsentrasi 100%. Dari sediaan dengan konsentrasi 100% ini dibuat beberapa sediaan larutan stok dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan dalam penelitian. Pembuatan larutan stok ini dilakukan dengan cara mengencerkan larutan stok awal dengan menggunakan rumus (Gunawan dan Roeswati, 2004):

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

Keterangan:

M_1 = konsentrasi larutan stok awal

M_2 = konsentrasi larutan yang diperlukan

V_1 = volume larutan stok awal yang harus dilarutkan

V_2 = volume larutan yang diperlukan

Sediaan untuk masing-masing konsentrasi dilarutkan dalam aquades hingga 20 ml. Volume ini menyesuaikan dengan kebutuhan larutan untuk 4 kali pengulangan. Jumlah perbandingan larutan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperti tersebut di bawah ini yang diperoleh dari hitungan dengan rumus:

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

Misal, untuk membuat 20 ml larutan dengan konsentrasi 5%, dilakukan pencampuran 1 ml larutan stok 100% dengan 19 ml aquades. Untuk membuat 20

ml larutan dengan konsentrasi 10%, dilakukan pencampuran 2 ml larutan stok 100% dengan 18 ml aquades. Untuk membuat 20 ml larutan dengan konsentrasi 15%, dilakukan pencampuran 3 ml larutan stok 100% dengan 17 ml aquades, begitu seterusnya.

4.7.3 Pembuatan Larutan Uji untuk Perlakuan

Dalam penelitian ini terdapat 2 kelompok, yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol menggunakan aquades serta malathion 0,28%, sedangkan pada kelompok perlakuan digunakan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan 3 konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi 30%, 40% dan 50%.

4.7.4 Penyiapan Sampel

Musca domestica dewasa yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tempat pembuangan sampah di sekitar Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan menggunakan jaring sebagai penangkap dan dimasukkan kedalam kantong plastik transparan. Kemudian, lalat dimasukkan kedalam kandang-kandang yang telah disiapkan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk digunakan sebagai sampel penelitian.

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 ini bersifat *trial and error*. Pada konsentrasi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebesar 50%, jumlah lalat yang mati pada jam ke-24 adalah sebanyak 10 ekor. Kemudian konsentrasi diturunkan menjadi 30%, jumlah lalat yang mati pada jam ke-24 adalah sebanyak 9 ekor. Sehingga dipilihlah konsentrasi 30%, 40%, dan 50% sebagai konsentrasi yang akan diterapkan dalam penelitian sesungguhnya.

4.7.6 Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapat dari jumlah *Musca domestica* dewasa yang mati pada tiap jam selama 6 jam pertama dan pada jam ke-24. Lalat yang mati merupakan lalat yang jatuh ke dasar kandang, tidak bergerak dan tidak menunjukkan respon sama sekali ketika dirangsang dengan lidi setelah dilakukan penyemprotan. Data yang dikumpulkan dicatat didalam bentuk tabel.

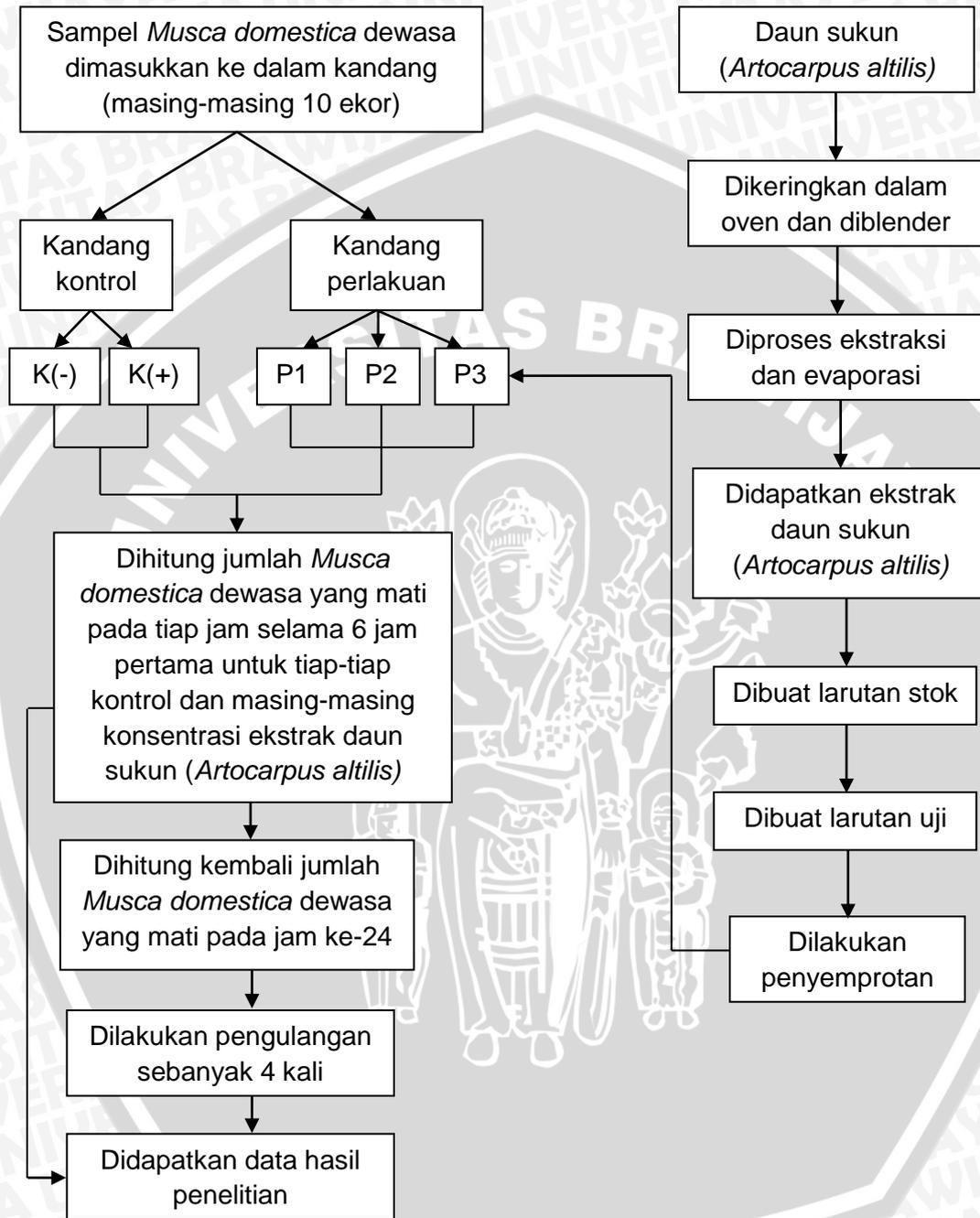
4.7.7 Cara Kerja

1. Sebelum dilakukan penelitian yang sesungguhnya, dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui interval konsentrasi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang efektif (larutan dengan konsentrasi minimum yang memiliki daya bunuh maksimum). Dipilihlah konsentrasi 30%, 40%, dan 50% sebagai konsentrasi yang akan diterapkan dalam penelitian sesungguhnya.
2. Larutan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) disiapkan dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50%, serta aquades sebagai kontrol negatif

dan malathion 0,28% sebagai kontrol positif. Diisikan kedalam tiap-tiap sprayer masing-masing sebanyak 4 ml dan diberi label.

3. Isi sprayer disemprotkan kesegala arah kedalam kandang, merata ke seluruh permukaan sisi kandang. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 5 buah kandang berbentuk bujur sangkar berukuran 25 x 25 x 25 cm yang terbuat dari kaca.
4. Memasukkan *Musca domestica* dewasa sebanyak 10 ekor pada tiap kandang.
5. Siapkan nutrisi untuk lalat yaitu larutan yang mengandung glukosa pada piring kecil/lepek sebagai makanan untuk lalat.
6. Pengamatan dilakukan setelah penyemprotan selesai dan diamati jumlah *Musca domestica* dewasa yang mati pada tiap jam selama 6 jam pertama pada setiap konsentrasi serta dituliskan kedalam tabel.
7. Pada jam ke-24 dilakukan pengamatan kembali dan dihitung jumlah lalat yang mati.
8. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali pada tiap perlakuan.

4.7.8 Diagram Kerja



Keterangan:

K(-) : Kontrol negatif dengan aquades

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

P1 : Perlakuan dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) konsentrasi 30%

P2 : Perlakuan dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) konsentrasi 40%

P3 : Perlakuan dengan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) konsentrasi 50%

4.8 Analisis Data

Pengolahan dan analisa data dibuat berdasarkan penghitungan jumlah *Musca domestica* yang mati untuk tiap-tiap larutan uji setelah pengamatan 24 jam. Potensi insektisida ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dihitung dengan menggunakan rumus *Abbott* sebagai berikut (WHO, 2006):

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

Keterangan:

A = persentase kematian setelah dikoreksi

B = persentase kematian pada kelompok perlakuan

C = persentase kematian pada kontrol negatif

Hasil penelitian ditabulasi dan disajikan dalam tabel, kemudian dianalisis dengan analisa statistik SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) 17.0 for Windows dengan menggunakan metode uji ANOVA jika syarat-syarat uji ANOVA terpenuhi. Syarat uji ANOVA yaitu (Dahlan, 2004):

- Terdapat lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan.
- Distribusi data normal, dapat diketahui dari uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov* atau *Shapiro-Wilk*). Jika distribusi data tidak normal, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi data menjadi normal.
- Varians data sama (homogen atau *equal variances*), dapat diketahui dari uji homogenitas. Jika varians data tidak sama, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya varians data menjadi sama atau homogen.

Jika syarat terpenuhi, maka dilakukan uji ANOVA yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna jumlah kematian lalat dari dua

kelompok atau lebih. Jika pada uji ANOVA didapatkan nilai $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi dan perbedaan waktu terhadap potensi insektisida. Kemudian untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan *post-hoc test* dengan uji *Tukey HSD* untuk data yang menggunakan uji ANOVA, dan uji *Mann-Whitney* untuk data yang menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Kemudian untuk mengetahui apakah terdapat korelasi antara perbedaan konsentrasi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan jumlah *Musca domestica* yang mati dan perbedaan lama waktu kontak antara insektisida ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap jumlah lalat yang mati, dilakukan uji korelasi *Pearson* atau *Spearman* (Dahlan, 2004).

