

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan “*true experimental design-post test-only control group design*” yaitu rancangan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan efek beberapa konsentrasi ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) senagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp.*

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah nyamuk *Culex sp* dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang hidup dan nyamuk yang aktif bergerak. Sedangkan yang termasuk kriteria eksklusi adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang mati dan tidak bergerak aktif selama percobaan. Sampel adalah sejumlah nyamuk dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Estimasi besar pengulangan dilakukan berdasarkan perhitungan dibawah ini: (Hariyana, 2007)

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

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

$$5n-5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \sim 4$$

keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Jadi, berdasarkan rumus di atas, penelitian ini menggunakan 5 sangkar, masing-masing sangkar berisi 25 nyamuk. Pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah minimal 4 kali. Maka besar sampel yang digunakan pada setiap perlakuan adalah 125 *Culex sp.* dan jumlah sampel yang dipakai adalah 500 ekor nyamuk dewasa *Culex sp.* (Awang et al, 2013).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah nyamuk *Culex sp.* yang mati setelah disemprot dengan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*)

4.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dalam persen (%) dan lama waktu paparan ekstrak dengan nyamuk *Culex sp.*

4.4 Definisi Operasional

1. Ekstrak daun kumis kucing : diperoleh dari proses ekstraksi kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) yang menggunakan etanol 80%.
2. Nyamuk *Culex sp.* yang dipakai dalam penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Culex sp.* yang ditangkap dengan menggunakan botol plastik pada malam hari dan dengan kunci identifikasi dengan melihat cara hinggapnya, warna hitam atau coklat, dan ukurannya.
3. Metode semprot adalah suatu metode untuk mengeluarkan insektisida cair melalui berbagai macam alat penyemprotan sehingga terbentuk

droplet berukuran kecil yang melayang di udara atau menetap pada permukaan objek yang mengadakan kontak dengan serangga.

4. Nyamuk mati : Bila dilakukan sentuhan / gangguan pada bagian *abdomen* atau bagian tubuh yang lainnya pada nyamuk dan tidak didapatkan pergerakan nyamuk *Culex sp.* Dewasa.

4.5 Bahan dan Instrument Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan

1. Ekstrak kumis kucing
2. Nyamuk *Culex sp.*
3. Sprayer
4. Kandang berukuran 25x25x25
5. Melathion 0,28% (mg/ml)
6. Aquades
7. Pinset

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*)

Proses ekstraksi kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) meliputi proses berikut :

1. Tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) basah dikeringkan dengan sinar matahari secara tidak langsung atau diangin-anginkan sampai kering.
2. Setelah kering, kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) diblender kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik.
3. Serbuk kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dimasukkan ke dalam kertas saring lalu dimasukkan ke dalam tabung untuk direndam dengan

etanol sampai serbuk yang ada di dalam kertas kering terendam dalam pelarut selama kurang lebih 1 minggu

4. Hasil selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak daun kumis kucing dengan pelarut etanol)

4.6.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*)

Proses evaporasi meliputi :

1. Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40 derajat.
2. Hasil rendaman etanol dipindahkan ke labu pemisah.
3. Labu pemisah evaporasi dihubungkan pada bagian evaporator, pendingin spiral dihubungkan dengan vakum oleh selang plastik, pendingin spiral dihubungkan dengan water pump oleh selang plastik.
4. Hasil penguapan etanol akan dialirkan menuju labu penampunbg etanol sehingga terpisah dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum.
5. Water pump ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, kemudian dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
6. Satu alat evaporasi diletakkan, sehingga labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada water bath.
7. Vakum dan water bath dihubungkan dengan sumber listrik dan pada water bath suhu dinaikkan 70-80 derajat celcius (sesuai dengan titik didih etanol)
8. Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi, kemudian dioven pada suhu 50-60 derajat celcius selama 3 jam, untuk menguapkan pelarut yang tersisa.

9. Hasil evaporasi kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Hasil yang akan digunakan dalam percobaan.

4.6.3 Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok adalah larutan ekstrak daun kumis kucing dengan konsentrasi 100%. Cairan pelarut ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) yang digunakan adalah aquades 100%.

4.6.4 Penyiapan Larutan uji

Aquades ditambah untuk pengenceran pertama kali pada larutan stok daun kumis kucing konsentrasi 100%. Larutan uji diambil dari larutan stok ekstrak daun kumis kucing sehingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan pengenceran :

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan :

M1 : konsentrasi larutan stok ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dengan konsentrasi tertinggi.

M2 : konsentrasi larutan yang diinginkan

V1 : volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : volume larutan pelarut yang digunakan

4.6.7.1 Uji Potensi Insektisida

Sebelum dilakukan terlebih dahulu penelitian pendahuluan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak daun kumis kucing yang efektif (larutan dengan konsentrasi minimum dan daya bunuh maksimum) yaitu dengan cara menyempatkan ekstrak kumis kucing dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 50%. Setelah didapatkan konsentrasi ekstrak kumis kucing yang efektif,

kemudian dilakukan *step up* dan *step down* dan konsentrasi tersebut untuk kemudian digunakan dalam penelitian.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 5 buah kotak berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 (cm) diletakkan dalam ruang dengan suhu 27 derajat celcius (suhu kamar) dan tingkat kelembapan antara 60-70%. Masukkan nyamuk *Culex sp.* dewasa sebanyak 25 ekor kedalam masing-masing sangkar yang akan diteliti.

Larutan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dengan konsentrasi 30%, 40%, 50% dipersiapkan.

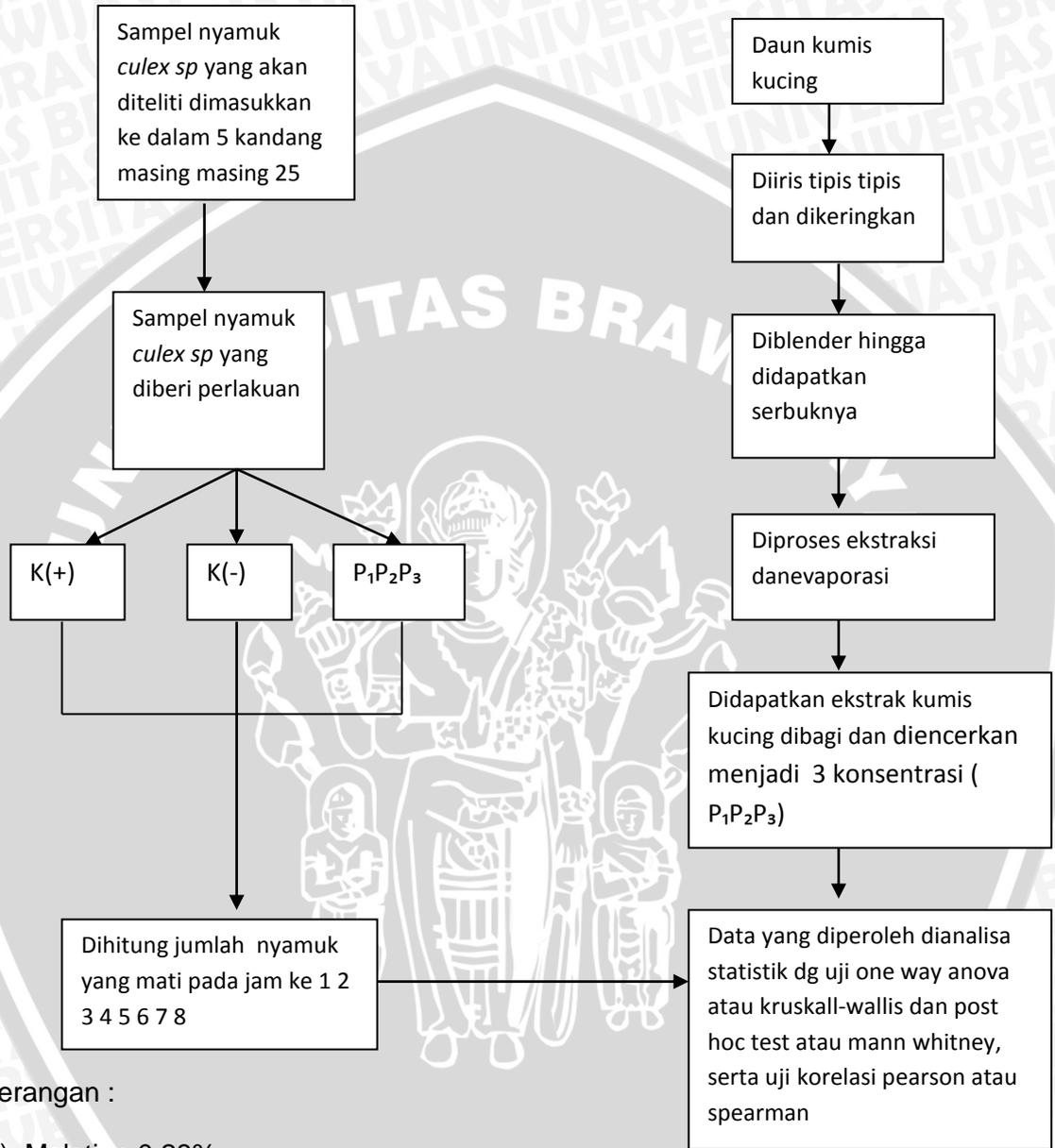
- Pada saat akan digunakan ambil ekstrak kumis kucing secukupnya, insektisida melathion 0,28% sebagai kontrol positif, dan aseton sebagai kontrol negatif untuk dimasukkan kedalam masing-masing sprayer.
- Isi sprayer disemprotkan kedalam kandang masing masing sampai habis
- Kandang 1 disemprot melathoin 0,28% sebanyak 3ml
- Kandang 2 disemprot aquades sebanyak 3ml
- Kandang 3 disemprot dengan menggunakan kumis kucing dosis 30% sebanyak 3ml
- Kandang 4 disemprot dengan kumis kucing dosis 40% sebanyak 3ml
- Kandang 5 disemprot dengan menggunakan kumis kucing dosis 50% sebanyak 3ml. Jumlah nyamuk yang mati setiap perlakuan dihitung dan diamati setelah 1 jam 2 jam 3 jam 4 jam 5 jam dan 24 jam.
- Percobaan ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali setiap perlakuan

4.7 Analisis Penelitian

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah one way ANOVA, dengan menggunakan one way ANOVA maka akan diketahui perbedaan potensi diantara berbagai perlakuan. Uji statistik regresi-korelasi juga dilakukan untuk menentukan kekuatan dan arah hubungan antara konsentrasi ekstrak kumis kucing terhadap kematian nyamuk dewasa *Culex sp* (Dahlan, 2004).



4.8 Diagram Alur Kerja



Keterangan :

K(+): Malation 0,28%

K(-) : Aquades

P₁ : 30 %

P₂ : 40 %

P₃ : 50 %