

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimenta-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) sebagai insektisida terhadap *Aedes sp.* Dengan metode *fogging*.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Cara Pemilihan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk *Aedes sp.* yang bibitnya diperoleh dari Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur dalam bentuk telur.

4.2.2 Estimasi Besar Sampel

Nyamuk dimasukkan dalam kandang sebanyak 25 ekor per kandang (WHO,2006) dengan menggunakan kriteria nyamuk dewasa *Aedes sp.* yang hidup. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari:

1. Kelompok kontrol negatif yang menggunakan solar
2. Kelompok kontrol positif yang *difogging* menggunakan malathion 0,8%
3. Kelompok kontrol negatif yang menggunakan solar
4. Kelompok yang *difogging* menggunakan insektisida ekstrak biji bengkuang dengan konsentrasi 10%

5. Kelompok yang difogging menggunakan insektisida ekstrak biji bengkuang dengan konsentrasi 20%
6. Kelompok yang difogging menggunakan insektisida ekstrak biji bengkuang dengan konsentrasi 40%

Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan. Banyaknya pengulangan tersebut dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut

(Tjokonegoro, 2011)

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

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

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

$$n-1 \geq 3,2$$

$$n \geq 4,2 \rightarrow 4$$

Keterangan :

n : Pengulangan

p : Perlakuan

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang dengan beberapa variasi konsentrasi dan waktu paparan.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah nyamuk *Aedes sp.* yang mati setelah *difogging* dengan ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang dengan konsentrasi berbeda.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Peralatan Penelitian

1. Mesin fogging (*Minifog D-H 99*)
2. Kandang nyamuk Silinder (tinggi 30 cm diameter 10 cm)
3. Kandang nyamuk Kubus panjang, lebar, dan tinggi (1m x 1m x 1m)
4. Gelas ukur
5. Korek api
6. Tabung gas kecil

4.4.2 Bahan Penelitian

1. Ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang
2. Malathion 0.8%
3. solar

4.5 Definisi Operasional

1. Biji tanaman bengkuang yang digunakan berasal dari Lombok Nusa Tenggara Barat
2. Ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang yang digunakan tergantung dari penelitian pendahuluan yaitu 10%, 20%, dan 40%
3. Kandang nyamuk adalah kandang sebuah kandang berbentuk silinder yang terbuat dari kasa, berukuran tinggi 30 cm dengan diameter 10 cm yang kemudian digantung dalam kandang berbentuk kubus (1m x 1m x 1m).
4. Nyamuk *Aedes sp.* yang digunakan diperoleh dari *Tropical Disease Center* (TDC) Surabaya dicocokkan dengan kunci sebagai berikut: matanya dichoptic

antena pylose, palpus lebih pendek dari proboscis, warna thorax dan abdomennya terang.

5. Efek insektisida diperoleh dengan cara menghitung jumlah nyamuk yang mati pada setiap jam hingga jam ke 6 dan jam ke 24.

6. nyamuk *Aedes sp.* yang telah difogging akan dihitung jumlah yang mati dan yang masih hidup.

7. Kontrol negatif adalah pemberian solar yang disemprotkan kedalam kandang nyamuk *Aedes sp.*

8. Kontrol positif adalah penyemprotan nyamuk *Aedes sp* dengan malathion 0,8%

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Persiapan Penelitian

4.6.1.1 Pembuatan Ekstrak n-Heksan Biji Tanaman Bengkuang

• Alat yang digunakan:

1. Oven
2. Timbangan
3. Gelas *Erlenmeyer*
4. Corong gelas
5. Kertas saring
6. Labu evaporator
7. Labu penampung ethanol
8. Evaporator
9. Pendingin spiral/*rotary evaporator*
10. Selang water pump

11. Water bath

- Bahan yang dibutuhkan:

1. Biji tanaman bengkuang
2. *N-heksan*
3. Aquades
4. Botol hasil ekstrak

- Proses ekstraksi :

1. Biji tanaman bengkuang (kering) dihaluskan dengan mesin penggiling sampai halus
2. Kemudian hasilnya ditimbang sebanyak 100gr (sampai kering)
3. 100gr sampel kering dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter
4. Kemudian direndam dengan *n-heksan* sebanyak 32 ml
5. Hasil pencampuran dikocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit)
6. Larutan dibiarkan sampai mengendap (selama 1 malam)
7. Lapisan atas campuran heksan diambil dengan cara disaring menggunakan kertas saring sampai hasil endapannya saja yang tertinggal.
8. Proses pengulangan perendaman dilakukan sampai 3 kali.

- Proses Evaporasi :

1. Campuran zat yang telah diambil tadi dimasukkan dalam labu evaporasi 1L
2. Labu evaporasi dipasang pada evaporator
3. Water bath diisi dengan air sampai penuh

4. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90°C) disambungkan dengan aliran listrik
5. Larutan *n-heksan* dibiarkan hingga memisah dengan zat aktif
6. Aliran *n-heksan* ditunggu hingga berhenti menetes pada labu panampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 ml

Hasil yang diperoleh kira kira 1/3 dari bahan alam kering yang mengandung bahan aktif rotenoid 0,5-1,0% per 100gr (Duke 2009)

Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik atau kaca dan disimpan dalam freezer.

4.6.1.2 Persiapan Nyamuk *Aedes sp.*

Nyamuk *Aedes sp.* yang dibeli dalam bentuk telur dibeli di Tropical Disease Center Surabaya dibiakkan di laboratorium parasitology Universitas Brawijaya selama 3 minggu.

4.6.1.3 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian, dilakukan terlebih dahulu penelitian pendahuluan untuk mendapatkan konsentrasi larutan biji tanaman benguang yang efektif. Penelitian pendahuluan ini bersifat trial dan error untuk mendapatkan konsentrasi efektif. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. ini akan dijadikan dasar dalam menetapkan 3 variasi konsentrasi dalam penelitian.

4.6.1.4 Pembuatan Konsentrasi Larutan untuk Penelitian

Berdasarkan deret hitung maka 3 variasi konsentrasi ekstrak biji tanaman benguang yang akan digunakan pada penelitian adalah 10%, 20%, dan 40%. Untuk mendapatkan variasi konsentrasi tersebut dari konsentrasi ekstrak awal (100%) maka digunakan rumus pengenceran sebagai berikut (Ratna Dkk 2009) :

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Keterangan :

V1 : volume sebelum pengenceran

M1 : molaritas sebelum pengenceran

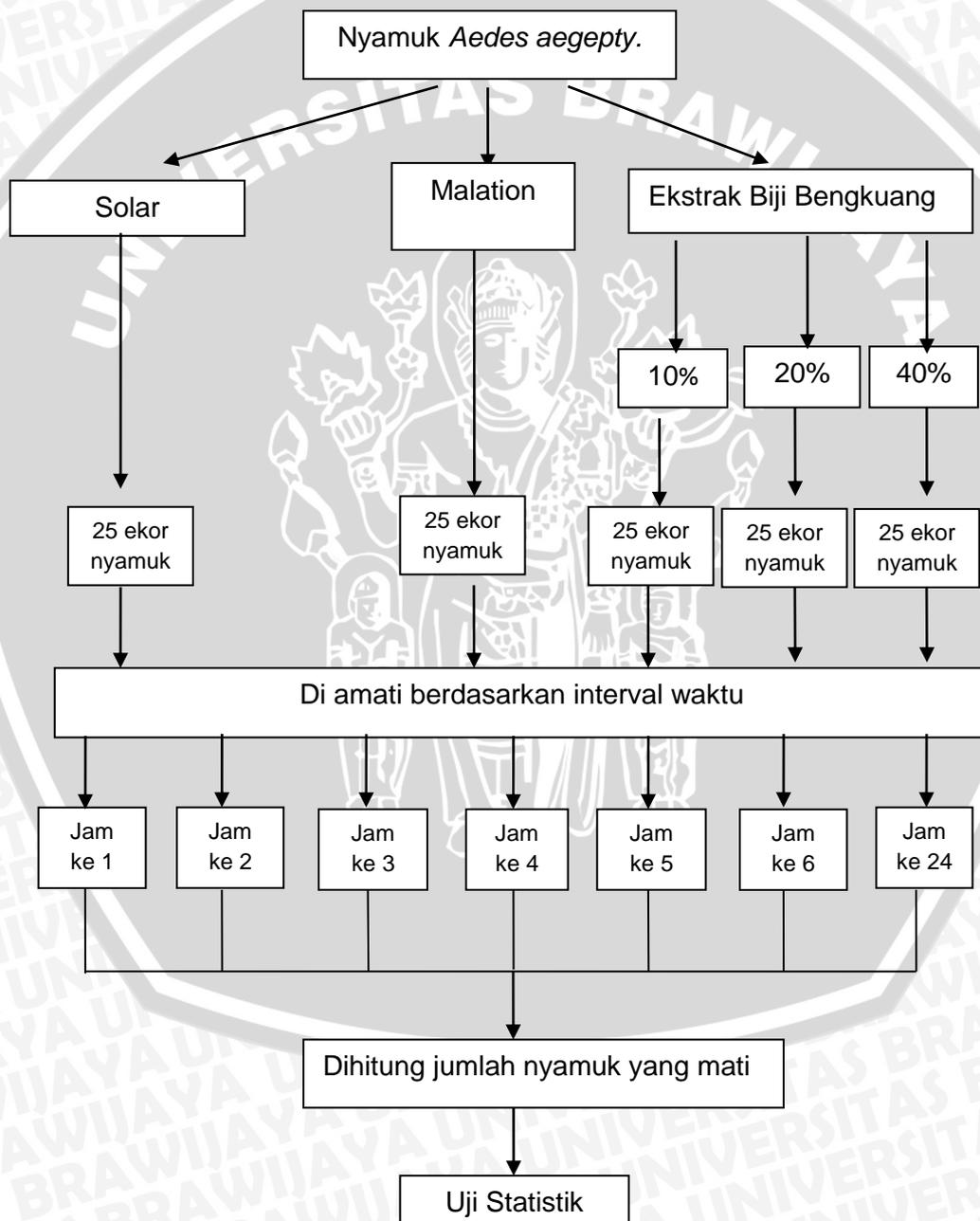
V2 : volume sesudah pengenceran

4.6.2 Cara Kerja Penelitian

1. Penelitian dengan menggunakan empat kandang berbentuk silinder berukuran tinggi 30 cm diameter 10 cm berisikan 25 nyamuk (WHO 2006) digantung didalam sebuah kandang kubus berukuran 1m x 1m x 1m dengan temperature $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$
2. Semua kandang kubus *diberikan* larutan gula yang dimasukkan ke dalam kapas dan diamati jumlah nyamuk yang mati jam hingga jam ke 6, dan diikuti jam ke 24 (WHO 2006). Campuran solar dan ekstrak dari masing-masing konsentrasi yang sudah tersedia dimasukkan dalam tabung kaca (100 ml). lalu isi tabung kaca sejumlah 10 ml *difogging* kedalam kandang kubus. Hal ini dilakukan pada masing-masing konsentrasi ekstrak yang telah tersedia dan diamati jumlah nyamuk yang mati setiap jam hingga jam ke 6, dan diikuti jam ke 24 (WHO 2006).
3. Kandang *difogging* dengan menggunakan malathion 0,8% sebagai control positif dan diamati jumlah nyamuk yang mati setiap jam hingga jam ke 6, dan diikuti jam ke 24 (WHO 2006).
4. . Setelah pengulangan pertaman selesai peralatan *fogging* dan kandang dicuci dan dibersihkan. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali untuk masing-masing perlakuan.

5. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah *fogging*. Nyamuk dinyatakan mati jika tidak ada pergerakan pada nyamuk setelah dilakukan sentuhan dengan lidi pada bagian abdomen.

4.6.3 Diagram Alur Penelitian



Keterangan :

Solar : sebagai kontrol negatif

Malation : sebagai kontrol positif

4.6.4 Pengumpulan Data

Data hasil dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut perlakuan (konsentrasi), jumlah nyamuk yang mati, dan waktu pengamatan. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisis dan dimasukkan dalam perhitungan statistik.

Presentase potensi insektisida ekstrak *n-heksan* biji tanaman bengkuang dihitung dengan menggunakan rumus abbot :

$$A1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100$$

Keterangan :

A1 = presentase kematian nyamuk setelah koreksi

A = jumlah kematian nyamuk uji

B = jumlah kematian nyamuk control negative

4.6.5 Pengolahan dan Analisa Data

Hasil penelitian dianalisis dengan software SPSS Version 22.0. Penelitian ini menggunakan variable numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui perbedaan potensi insektisida ekstrak biji tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) berdasarkan jumlah nyamuk *Aedes sp.* yang mati yaitu factor perlakuan (konsentrasi) pada setiap waktu pengamatan, sehingga uji statistik yang

digunakan adalah uji Anova untuk mengetahui perbedaan potensi insektisida dalam beberapa variasi konsentrasi pada setiap waktu pengamatan. Uji ini dapat digunakan jika syaratnya :

- a. Terdapat lebih dari dua kelompok yang tidak perpasangan
- b. Distribusi data normal
- c. Varians data homogen
- d. Jika distribusi data tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan transformasi data
- e. Jika data hasil transformasi tetap tidak terdistribusi normal atau varians tetap tidak homogen, maka alternatifnya dipilih uji *Kruskal Wallis* dengan *Post Hock*-nya menggunakan *Mann Whitney*. Uji korelasi menggunakan *spearman*.

