

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk membandingkan dosis ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) sebagai insektisida.

4.2 Populasi Dan Sampel

Penelitian ini menggunakan nyamuk *culex sp* yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut :

- a) Kriteria inklusi : Semua nyamuk *culex sp* yang hidup dan aktif bergerak.
- b) Kriteria eksklusi : Semua nyamuk *culex sp* yang tidak aktif bergerak/mati.

4.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel ditentukan oleh jumlah sampel setiap kandang, jumlah perlakuan dan jumlah pengulangan yang dilakukan. Dalam penelitian ini, digunakan jumlah sampel setiap kandang sebanyak 25 ekor nyamuk dengan 5 kelompok perlakuan ,yaitu 3 kelompok perlakuan ,1 kelompok kontrol positif (Malathion 0.28%) dan 1 kelompok kontrol negatif (aquades). Jumlah pengulangan ditentukan dengan menggunakan rumus:

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

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

$$N - 1 \geq 3.2$$

$$n \geq 4.2 \sim 4 \quad (\text{Loekito, 1999})$$

Keterangan :

P=Jumlah perlakuan yang dilakukan

n=Jumlah pengulangan tiap perlakuan

Dari perhitungan didapatkan $n \leq 4.2$, jadi dilakukan empat kali replikasi untuk setiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jadi berdasarkan rumus diatas, didapatkan jumlah pengulangan yang harus dilakukan adalah sebanyak 4 kali sehingga besar sampel adalah 500 ekor nyamuk.

$$\begin{aligned}\text{Besarnya sampel} &= \text{jumlah sampel setiap kandang} \times \text{jumlah perlakuan} \times \\ &\quad \text{jumlah pengulangan} \\ &= 25 \text{ ekor} \times 5 \text{ perlakuan} \times 4 \text{ pengulangan} \\ &= 500 \text{ ekor}\end{aligned}$$

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan April 2014.

4.5. Identifikasi Variabel

4.5.1 Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah nyamuk *Culex* yang mati setelah perlakuan semprot dilakukan.

4.5.2 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) dan waktu percobaan (dalam jam).

4.5.3 Definisi Operasional

1. Buah Pare : Berupa buah pare (*Momordica charantia*) yang digunakan merupakan jenis pare gajih yang dibeli dari Balai Materia Medika, Batu.

2. Ekstrak etanol buah pare : Ekstrak yang dihasilkan di Laboratorium Balai Materia Medika Batu dengan tatacara "*Technique of Simple Extraction*".
3. Method Semprot adalah cara untuk menyebarkan partikel cairan dengan bantuan alat semprotan.
4. Potensi insektisida adalah data kematian nyamuk yang telah diolah dengan menggunakan formula Abbot untuk menghitung jumlah nyamuk yang mati.

4.6 Alat Dan Bahan Uji Potensi Ekstrak etanol buah pare

Alat dan bahan yang diperlukan :

- Sprayer dan kertas turas
- Kandang berukuran 25cm x 25cm x 25cm
- Pinset
- Ekstrak etanol buah pare
- Nyamuk *Culex sp*
- Malathion 0,28% dan aquadest

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi dan Evaporasi Buah pare

4.7.1.1 Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi buah pare dilakukan berdasarkan tatacara pelaksanaan ekstraksi "*Technique of Simple Extraction*" yang terdapat dalam buku eksperimen kimia organik "*An introduction to Modern Experimental Organic Chemistery*" (H.William, 2003) dengan etanol sebagai pelarutnya. Adapun prosesnya sebagai berikut :

- Buah pare (*Momordica charantia*) dengan berat kering 100 g dicuci pada air bersih yang mengalir.

- Setelah dicuci buah pare diiris tipis dan dikeringkan dengan sinaran matahari kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu oven 60-80⁰ C agar kulit tersebut menjadi kering sempurna.
- Setelah kering buah pare tersebut dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya.
- Serbuk buah pare dengan berat kering 100 g dimasukkan ke dalam botol 1,5 L untuk direndam dengan etanol 1L selama 1 minggu.
- Hasil rendaman selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak etanol buah pare dengan pelarut etanol).

4.7.1.2 Proses Evaporasi

Proses evaporasi bertujuan untuk memisahkan hasil ekstrak yang telah didapat dengan pelarut etanol. Evaporator dipasang pada tiang permanent agar dapat tergantung dengan kemiringan 30⁰ C – 40⁰ C terhadap meja percobaan. Hasil rendaman etanol yang berupa larutan dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendingin spiral dihubungkan pada bagian atas evaporator; pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik; pendingin spiral dihubungkan dengan *water pump* dengan selang plastik.

Water pump ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, *water pump* dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata). Satu set evaporasi diletakkan, sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *water bath*. Vakum dan *water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhu pada *water bath* sekitar 70⁰C (sesuai dengan titik didih etanol).

Sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam. Setelah itu, hasil evaporasi

dipanaskan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 1-2 hari. Hasil akhir yang berupa minyak kental dan beraroma khas dari buah pare inilah yang akan digunakan dalam percobaan ini.

4.7.2 Cara Pembuatan Larutan Stok

Ekstrak pekat yang tersimpan di *freezer* disesuaikan suhunya dengan suhu kamar dengan cara membiarkan di udara kamar selama 15 menit. Pasta ekstrak etanol buah pare ditumbuk menggunakan mortar sehingga homogen. Hasilnya dicampur dengan campuran aquadest sehingga mendapatkan larutan stok dalam aquadest. Pengulangan ekstrak dilakukan dengan dikurangi sehingga mendapat konsentrasi 25%, 30% dan 35%.

4.7.3 Pelaksanaan Penelitian

Aquades ditambahkan untuk pengenceran pertama kali pada larutan stok konsentrasi 100%. Larutan uji diambil dari larutan stok ekstrak buah pare dan disiapkan dalam berbagai konsentrasi yang telah ditentukan melalui uji eksplorasi yaitu 25%, 30% dan 35%.

Pembuatan dosis dengan cara pengenceran dari larutan stok 100 % adalah dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan :

- M1 : Konsentrasi larutan stok
- M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan
- V1 : Volume larutan stok
- V2 : Volume larutan perlakuan (Lukito, 1998).

4.7.4 Cara kerja

Penelitian ini adalah menggunakan cara kerja berikut :

- > Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 kandang yang kuboid berukuran 25cm x 25cm x 25cm diletakkan di dalam ruang dengan suhu kamar dan tingkat kelembapan antara 60 -70 %.
- > Pencairan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dicairkan sehingga berkadar kepada 25%, 30% dan 35% dengan 0,28% malathion dan aquades menggunakan formula $M1V1 = M2V2$.
- > Masing-masing konsentrasi di masukkan ke dalam alat semprot yang berbentuk silinder yang berukuran 3ml.
- > Nyamuk di masukkan sebanyak 25 ekor pada setiap kandang.
- > Semua bahan yang dimasukkan ke dalam alat semprot disemprotkan ke dalam kandang.
- > Pengamatan terhadap perlakuan dilakukan setelah waktu pemsemprotan selesai dan diamati setelah 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, 6 jam, dan 24 jam, kemudian jumlah nyamuk yang mati dihitung.
- > Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali untuk masing-masing perlakuan.
- > Data jumlah nyamuk uji yang mati pada berbagai konsentrasi dan berbagai interval waktu pengamatan dianalisis untuk mengetahui besarnya potensi insektisida pada setiap konsentrasi yang berupa persentase kematian nyamuk uji setelah dikoreksi dan dihitung menurut Abbott's formula:

Rumus Abbot adalah sebagai berikut :

$$A = ((B - C) / (100 - C)) \times 100 \%$$

Keterangan :

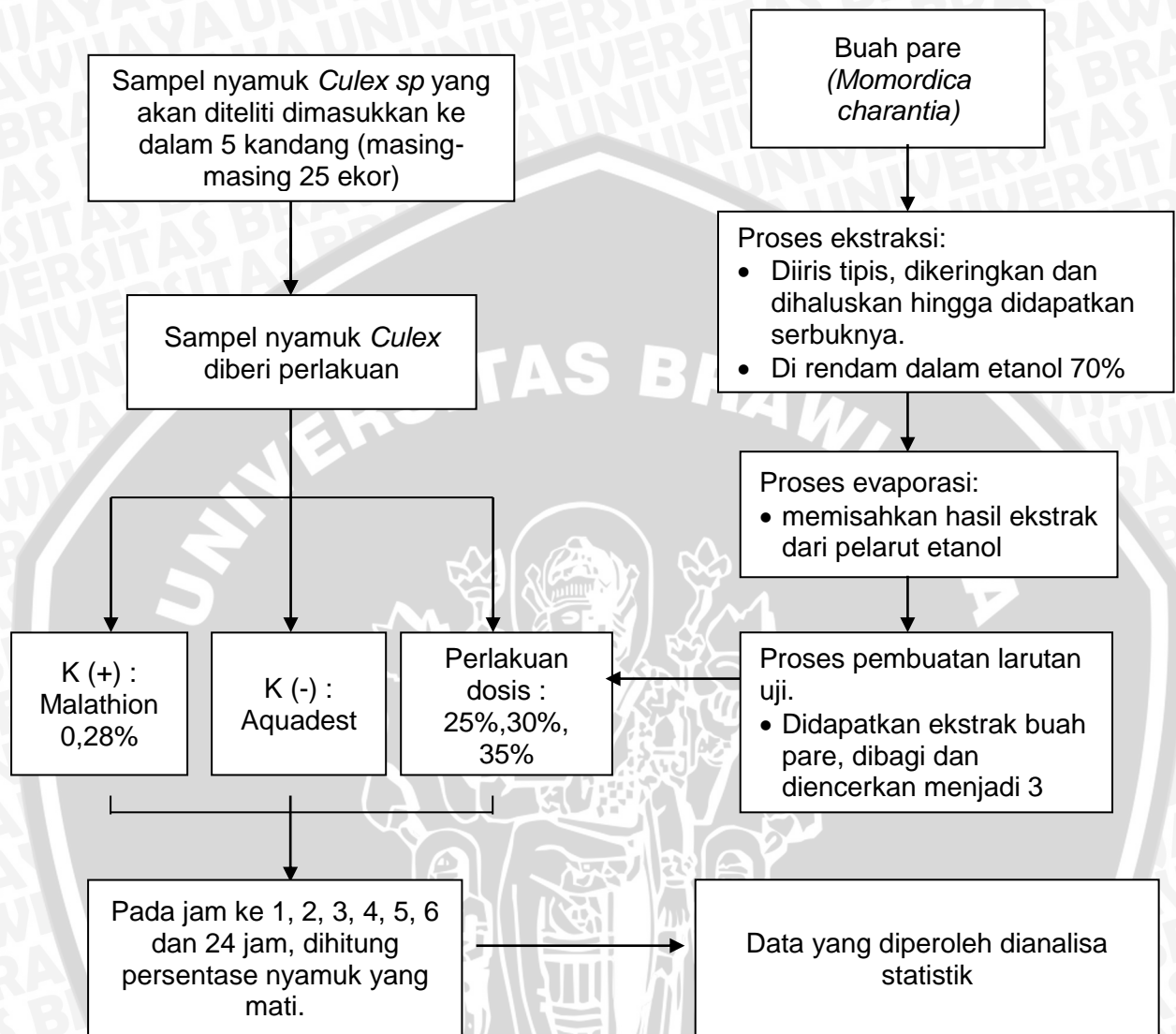
- A = prosentase kematian nyamuk setelah dikoreksi
- B = prosentase kematian nyamuk uji
- C = prosentase kematian nyamuk kontrol negatif

100 = jumlah nyamuk yang tiap perlakuan dikalikan pengulangan (25x4)

(Lukito, 1998).



4.7.5 Diagram Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.7.5 Diagram Alur Kerja Penelitian

4.8 Pengumpulan Data

4.8 Pengumpulan Data

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

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan perhitungan jumlah nyamuk yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak etanol buah pare dihitung menggunakan rumus Abbot dan dinyatakan sebagai potensi insektisida. Analisis data dilakukan dengan uji *one-way ANOVA* (*Analysis of variance*) jika syarat uji parametrik (sebaran data normal dan data homogen) terpenuhi dan dilanjutkan *Post Hoc Tukey*. Kemudian dilanjutkan menggunakan uji korelasi untuk menilai kekuatan dari dosis tersebut. Namun Jika sebaran data tidak normal atau tidak homogen dapat menggunakan uji non parametrik.