

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 potensi ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) dengan menggunakan metode semprotan sebagai insektisida terhadap lalat.

4.2 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan maret 2014 dan mengambil waktu selama satu minggu.

4.3 Populasi dan Besar Sampel

4.3.1 Jumlah Populasi

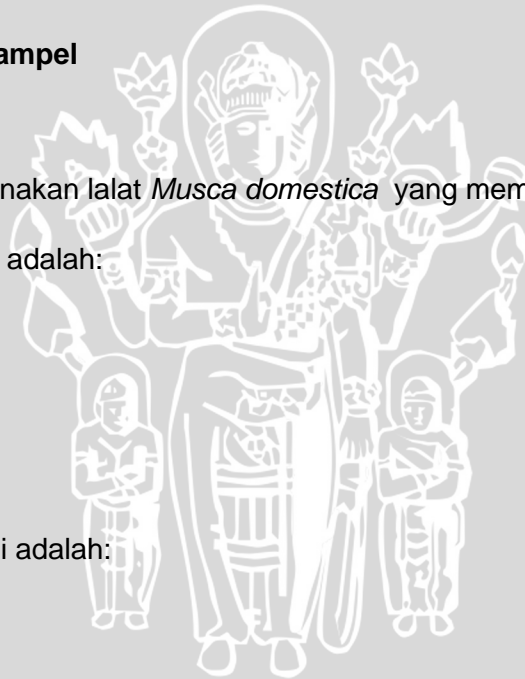
Pada penelitian ini menggunakan lalat *Musca domestica* yang memenuhi kriteria inklusi.

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah:

- Lalat yang hidup.
- Lalat yang aktif bergerak.

- Kriteria eksklusi penelitain ini adalah:

- Lalat yang mati.
- Lalat yang belum dewasa.



4.3.2 Perlakuan

Adapun perlakuan yang digunakan adalah dengan membagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari :

1. Kontrol positif :

Larutan Malathion 0.28 % (WHO, 2006).

2. Kontrol negatif :

Aquades (WHO, 2006).

3. Perlakuan I:

Larutan ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) 2.5%.

4. Perlakuan II:

Larutan ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) 5%.

5. Perlakuan III:

Larutan ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) 7.5 %

6. Perlakuan iv:

Larutan ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) 10%.

4.3.3 Pengulangan

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus $p(n-1) \geq 15$ (WHO, 2006). Atas dasar rumus tersebut hitungannya untuk pengulangan perlakuan adalah:

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

keterangan:

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

jadi, berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini minimal adalah 4 kali.

Jumlah sampel : Pada penelitian ini digunakan sampel lalat sebanyak 10 ekor x 6 kali perlakuan x 4 pengulangan = 240 ekor.

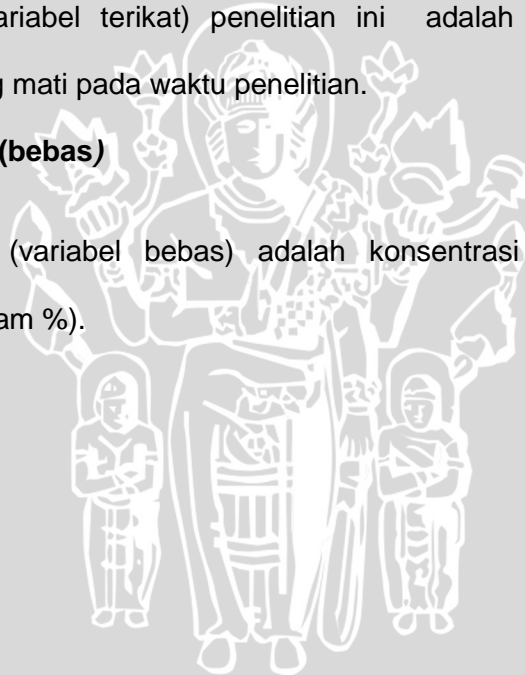
4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel *Dependent* (terikat)

Variabel *dependent* (variabel terikat) penelitian ini adalah jumlah lalat *Musca domestica* dewasa yang mati pada waktu penelitian.

4.4.2 Variabel *Independent* (bebas)

Variabel *independent* (variabel bebas) adalah konsentrasi ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) (dalam %).



4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

- ❖ Alat Untuk Uji *Insektisida* lalat *Musca domestica*.
 - Kandang berukuran 25 cm x 25 cm x 25cm
 - *Spray* / alat penyemprot
 - Pinset
 - Masker
 - *Glove*
- ❖ Alat Untuk Uji Ekstrak Daun kari (*Murraya Koenigii*)
 - Ekstrak Daun kari (*Murraya Koenigii*)
 - Kertas saring
 - Gelas Ekstraksi (botol)
 - Timbangan
 - Neraca analitik
 - *Blender*
 - alat pemanas air
 - *rotary evaporator*
 - labu penampung



4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) dan bahan uji kemampuan zat insektisida.

- Bahan Pembuatan Ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*)

1. Daun kari (*Murraya koenigii*)
2. Akuades
3. Etanol 96%

- Bahan uji kemampuan zat insektisida.

1. Ekstrak Daun kari
2. Akuades
3. Lalat
4. Larutan malathion

4.6 Definisi Operasional

- Ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) adalah hasil evaporasi dan ekstraksi. Ekstrak Daun kari (*Murraya koenigii*) berasal dari kebun di belakang rumah saya, di negara Malaysia yang dibuat dengan mengeringkan 1,5 kilogram daun kari sehingga didapatkan 500 gram daun kari, kemudian dengan menggunakan pelarut etanol 1liter (Kementerian BUMN, 2012).
- Larutan yang berasal dari ekstraksi daun kari dianggap memiliki kandungan 100%.
- *Lalat Musca Domestica* yang digunakan adalah yang masih hidup yang bergerak secara aktif. Lalat ditangkap di tempat perindukan yang telah diseleksi dari tempat habitatnya yaitu di sekitar laboratorium parasitologi FKUB.

- Kontrol positif adalah bahan pembanding yang telah terbukti memiliki potensi insektisida. Kontrol positif standar menurut WHO adalah larutan Malathion 0.28 %.
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut ekstrak daun kari yang tidak memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif aquades karena aquades merupakan pelarut dalam pembuatan ekstrak daun kari.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak daun kari dalam mematikan lalat *Musca domestica* dibanding dengan kontrol positif.
- Untuk setiap konsentrasi yang berbeda, operasional diulang sebanyak 4 kali.

4.7 Persiapan Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Daun kari (*Murraya koenigii*)

Proses ekstraksi Daun kari (*Murraya koenigii*) dilakukan dengan cara maserasi.

- Daun Kari (*Murraya koenigii*) diiris kemudian dijemur sampai kering, setelah itu daun kari yang kering dihaluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.
- 500 gram serbuk daun kari dimasukkan ke dalam botol lalu direndam dengan etanol.
- Pelarut etanol sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam botol sehingga serbuk yang terbungkus kertas saring terendam dalam pelarut etanol. Larutan dibiarkan sampai rendaman berwarna coklat tua (\pm dua hari).

- Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain.
- Ekstraksi dilakukan dengan beberapa kali penggantian etanol.
- Ekstraksi dihentikan jika etanol dengan tempat menampung serbuk daun kari sudah jernih (setelah satu minggu).
- Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Daun kari (*Murraya koenigii*)

- Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40°, dan bawah ke atas yaitu alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik. Selain itu, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan labu penampung hasil penguapan.
- Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali, *rotary evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum semua dinyalakan. Pemanas aquades dinyalakan juga 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, ditandai dengan batu-batu pengaduk yang ikut berputar, maka proses dapat dihentikan dan hasil evaporasi diambil.

- Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian dioven pada suhu 50-60°C selama 1-2 menit, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapat hasil Daun Kari (*Murraya koenigii*).
- Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) yang berupa pasta kemudian ditimbang dengan neraca analitik (WHO, 2006).

4.7.3 Cara Pembuatan Larutan Stok

Cairan pelarut ekstrak daun kari yang digunakan adalah larutan aquades. Larutan stok ekstrak daun kari dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji. (WHO, 2006).

i) **Penyiapan larutan uji**

Larutan stok ekstrak daun kari diencerkan dengan aquades hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak daun kari

M2 : Konsentrasi larutan ekstrak daun kari yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan yang diperlukan

Volume akhir larutan perlakuan yang diperlukan untuk setiap konsentrasi adalah 4 ml. Jadi setelah diambil dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan aquades sampai mencapai volume 4 ml (WHO, 2006).

4.7.5 Penyiapan sampel

Lalat *Musca domestica* dewasa dimasukkan ke dalam kandang. Masing-masing kelompok coba memiliki 10 lalat *Musca domestica* dewasa. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sprayer yang telah diberi label dan dilanjutkan dengan menyemprot larutan uji tersebut ke dalam kandang yang tersedia. Kelompok kontrol negatif, yaitu penyemprotan aquades sejumlah 4 ml pada lalat *Musca domestica* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari aquades. Sedangkan kelompok kontrol positif, yaitu penyemprotan Malathion 0,28% sejumlah 4 ml pada lalat *Musca domestica* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari Malathion 0,28%.

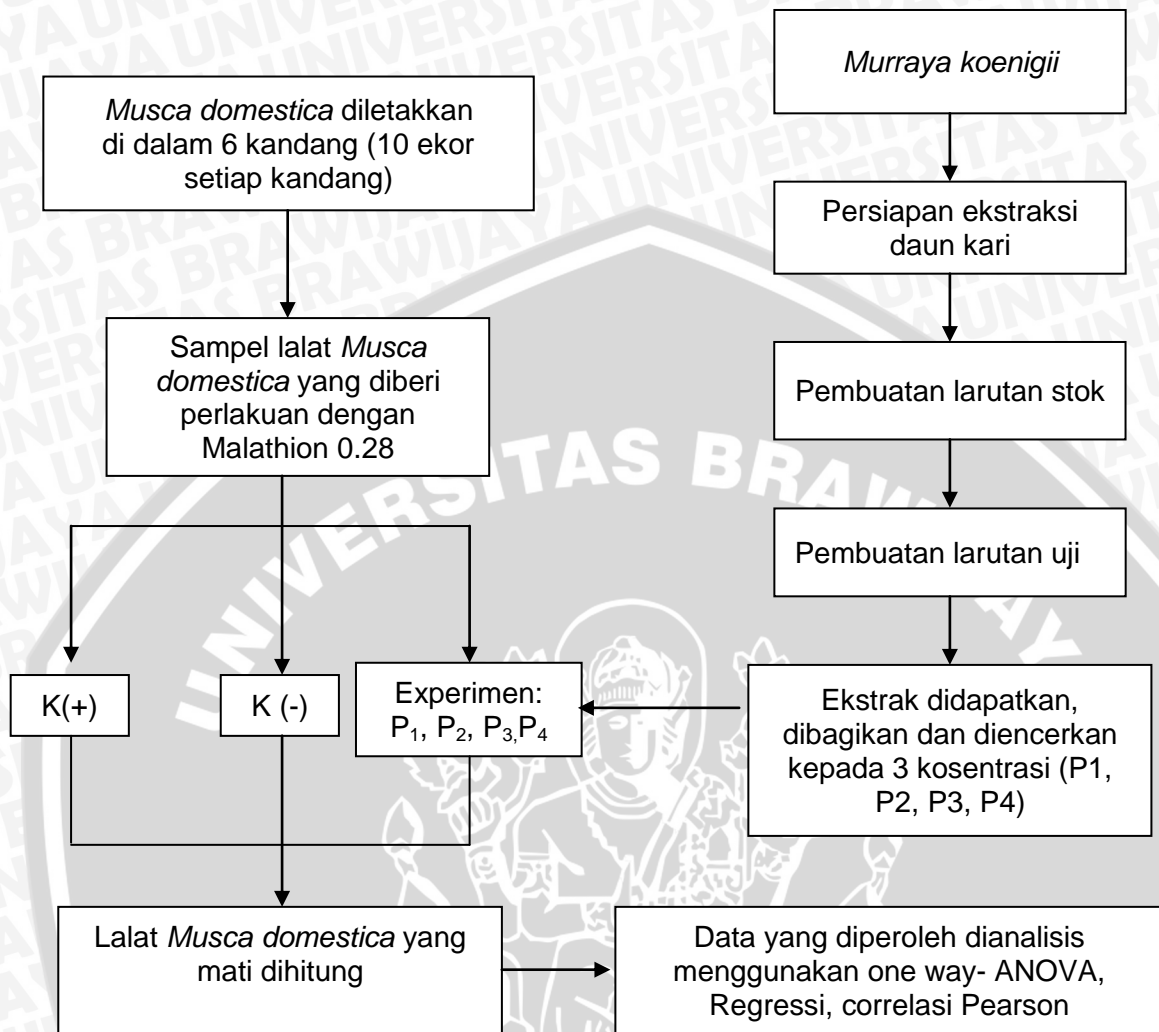
4.7.6 Alur Kerja Penelitian Racun Kontak Menurut WHO

Percobaan dilakukan dengan menggunakan 6 buah kandang berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 cm³ diletakkan dalam ruang dalam suhu kamar.

- a) 10 ekor lalat *Musca domestica* dewasa dimasukkan ke dalam kandang pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol.
- b) Ekstrak daun kari dengan konsentrasi tertentu dipersiapkan.
- c) Pada saat akan digunakan, ambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, kontrol positif, kontrol negatif) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer.
- d) Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing – masing kandang sampai habis.
- e) Kandang 1 disemprot dengan menggunakan larutan aquades sejumlah 4 ml (sebagai kontrol negatif).

- f) Kandang 2 disemprot dengan menggunakan Malathion 0,28% sebanyak 4 ml (sebagai kontrol positif).
- g) Kandang 3 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kari 2.5 % sebanyak 4 ml.
- h) Kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kari 5 % sebanyak 4 ml.
- i) Kandang 5 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kari 7.5% sebanyak 4 ml.
- j) Kandang 6 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun kari 10% sebanyak 4 ml.
- k) Jumlah lalat *Musca domestica* yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap menit 10,20,30,40,50,60, 6 jam dan selanjutnya pada jam ke 24.
- l) Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan.





Gambar 4.1 Diagram Alur kerja Penelitian

Keterangan:

- K+ : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml Malathion 0,28% (kontrol positif)
- P1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 2.5 %
- P2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 5 %
- P3 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 7.5 %
- P4 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 10%
- K- : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml aquades (kontrol negatif)

Studi pendahuluan telah dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan konsentrasi ekstrak daun kari yang akan dilakukan. Hasil studi pendahuluan menggunakan konsentrasi ekstrak daun kari 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Didapatkan dari hasil studi pendahuluan bahwa konsentrasi ekstrak daun kari 10 % adalah terlalu rendah berbanding konsentrasi lain yaitu 20%, 30%, 40% dan 50%. Oleh karena penelitian ini membutuhkan konsentrasi yang minimal untuk membunuh lalat maka, konsentrasi yang telah saya pilih untuk penelitian saya adalah 2.5 %, 5 %, 7.5% dan 10 %.

4.8 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah persentase kematian lalat *Musca domestica* dewasa setelah 24 jam, pengulangan dan konsentrasi.

4.9 Metode Pengukuran Potensi Insektisida

Persentase potensi insektisida ekstrak daun kari dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus (WHO, 2006):

$$A1 = (A - B / 100 - B) \times 100 \%$$

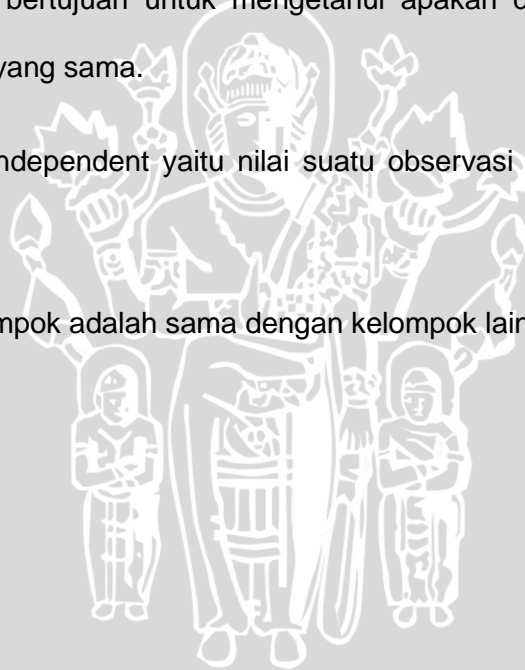
Keterangan:

- A1 : Persentase kematian lalat setelah koreksi
- A : Persentase kematian lalat uji
- B : Persentase kematian lalat kontrol negatif

4.10 Analisis Data Penelitian

Statistik yang digunakan untuk mencari perbedaan antara kelompok dengan lebih dari 2 kelompok adalah *One way ANOVA*, dengan syarat sebagai berikut :

1. Memeriksa syarat anova untuk lebih dari dua kelompok tidak berpasangan
 - a. Sebaran data harus normal - dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan *kolmogorov smirnov test*.
 - b. Varian data harus sama - data yang diperoleh dari setiap perlakuan dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance (levene test)* yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama.
 - c. Observasi adalah independent yaitu nilai suatu observasi tidak berkaitan dengan nilai yang lain.
 - d. Varians setiap kelompok adalah sama dengan kelompok lain



Data-data hasil yang telah dikelompokkan dan dimasukkan tabel, diuji kemaknaannya dengan menggunakan *One-way ANOVA*. *Anova* ini untuk menganalisis apakah ada perbedaan persentase kematian lalat *Musca domestica* dewasa antara lebih dari dua kelompok. Apabila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan analisis dengan uji *post hoc TUKEY* untuk menguji kelompok mana saja yang memiliki perbedaan nyata. Kemudian dilanjutkan dengan analisis korelasi *Pearson*, dimana analisis untuk melihat kekuatan hubungan antara 2 variabel, yaitu konsentrasi larutan ekstrak daun kari dengan jumlah kematian lalat. Selain itu, turut dilakukan uji regresi linear. Untuk uji analisis *One-way ANOVA*, uji analisis *post hoc (LSD test)*, uji korelasi *Pearson* menggunakan fasilitas SPSS 17 untuk Windows (WHO, 2006).

