

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 potensi ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) sebagai insektisida terhadap lalat *Musca domestica*.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Ekstrak daun *rosemary* untuk penelitian ini telah dilakukan di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.

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 *Musca domestica* yang hidup
 - Lalat *Musca domestica* yang aktif bergerak
- Kriteria eksklusi penelitian ini adalah:

- Lalat *Musca domestica* yang tidak bergerak
- Lalat *Musca domestica* yang belum dewasa

4.3.2 Perlakuan

Sebelum penelitian dimulakan, eksplorasi telah dijalankan untuk memilih konsentrasi dosis yang minimal dan tepat untuk membunuh lalat *Musca domestica* menggunakan ekstrak daun *rosemary* yang terdiri dari:

Eksplorasi : 2.5%, 5%, 7.5%, 10% dan 20%.

Dari kelima eksplorasi konsentrasi ekstrak ini, yang terpilih dalam penelitian ini adalah konsentrasi 5%, 7.5% dan 10%.

Adapun perlakuan yang digunakan adalah dengan membagi menjadi 5 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 *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) 5%.

4. Perlakuan II:

Larutan ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) 7.5%.

5. Perlakuan III:

Larutan ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) 10 %.

4.3.3 Pengulangan

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4 \text{ (Lukito, 1998)}$$

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 *Musca domestica* sebanyak 10 ekor x 5 kali perlakuan x 4 pengulangan = 200 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 *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) (dalam %)

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

❖ Alat Pembuatan Ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)

1. Blender
 2. Tabung untuk merendam serbuk daun *rosemary* yang sudah diblender.
 3. Saringan
 4. Kertas saring
 5. Gelas ekstraksi (botol)
 6. Neraca analitik
 7. Klem statis
 8. Oven
 9. Timbangan
 10. Seperangkat alat evaporasi vakum
 - Rotary evaporator
 - Pompa vakum
 - Tabung pendingin dan alat pompa sirkulasi air dingin
 - Bak penampung air dingin
 - Labu penampung hasil evaporasi
 - Labu penampung etanol
 - Batu didih
- 

- ❖ Alat Untuk Uji *Insektisida Musca domestica*
 - Kandang berukuran 25 cm x 25 cm x 25cm
 - *Spray* / alat penyemprot
 - Pinset
 - Masker
 - Glove

4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) dan bahan uji kemampuan zat insektisida.

- Bahan Pembuatan Ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)
 1. Daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)
 2. Aquades
 3. Etanol 96%
- Bahan uji kemampuan zat insektisida.
 1. Ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)
 2. Aquades
 3. Lalat *Musca domestica*
 4. Larutan malathion

4.6 Definisi Operasional

- 500 gram daun *rosemary* dikering, ditimbang dan diblender sehingga mendapat 100 gram daun *rosemary*. Kemudian dengan menggunakan pelarut ethanol 1 liter proses ekstraksi dimulakan.
- Ekstrak daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) adalah hasil evaporasi dan ekstraksi daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*).
- Larutan yang berasal dari ekstraksi daun *rosemary* dianggap memiliki kandungan 100%.
- Lalat *Musca domestica* yang digunakan adalah yang masih hidup yang bergerak secara aktif. Lalat didapatkan dari Pasar Burung Malang.
- Kontrol positif adalah bahan perbandingan yang telah terbukti memiliki potensi insektisida. Kontrol positif standar menurut WHO adalah larutan Malathion 0.28 %.
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut ekstrak daun *rosemary* yang tidak memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif aquades karena aquades merupakan pelarut dalam pembuatan ekstrak daun *rosemary*.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak daun *rosemary* dalam mematikan lalat *Musca domestica* dibanding dengan kontrol positif.
- Untuk setiap konsentrasi yang berbeda, operasional diulang sebanyak 4 kali menggunakan metode semprotan.
- Waktu observasi penelitian ini adalah jam 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan ke 24. Penelitian ini dilakukan dalam jam dan bukan menitan karena dari

observasi dosis, ekstrak daun *rosemary* tidak dapat membunuh lalat *Musca domestica* dalam menitan menggunakan dosis minimal.

- Terdapat juga waktu observasi dari jam ke 6 hingga jam ke 24 disebabkan masalah teknis karena lab Parasitology tutup jam 6 malam).

4.7 Persiapan Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)

Proses esktraksi daun *rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) dilakukan dengan cara maserasi.

- Daun *rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) diiris kemudian dijemur sampai kering, setelah itu daun *rosemary* yang kering dihaluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.
- 500 gram serbuk daun *rosemary* 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 *rosemary* sudah jernih (setelah satu minggu).
- Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Daun *Rosemary*(*Rosmarinus officinalis*)

- 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 *rosemary*(*Rosmarinus officinalis*).
- Ekstrak daun *rosemary*(*Rosmarinus officinalis*) yang berupa pasta kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

4.7.3 Cara Pembuatan Larutan Stok

Cairan pelarut ekstrak daun *rosemary* yang digunakan adalah larutan aseton. Larutan stok ekstrak daun *rosemary* dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji. (Derrida, 2006)

4.7.4 Penyiapan larutan uji

Larutan stok daun *rosemary* diencerkan dengan aseton 1% hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak daun *rosemary*

M2 : Konsentrasi larutan ekstrak daun *rosemary* 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 kandang 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 kandang 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 5 buah kotak kaca berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 cm³ diletakkan dalam ruang dalam suhu kamar.

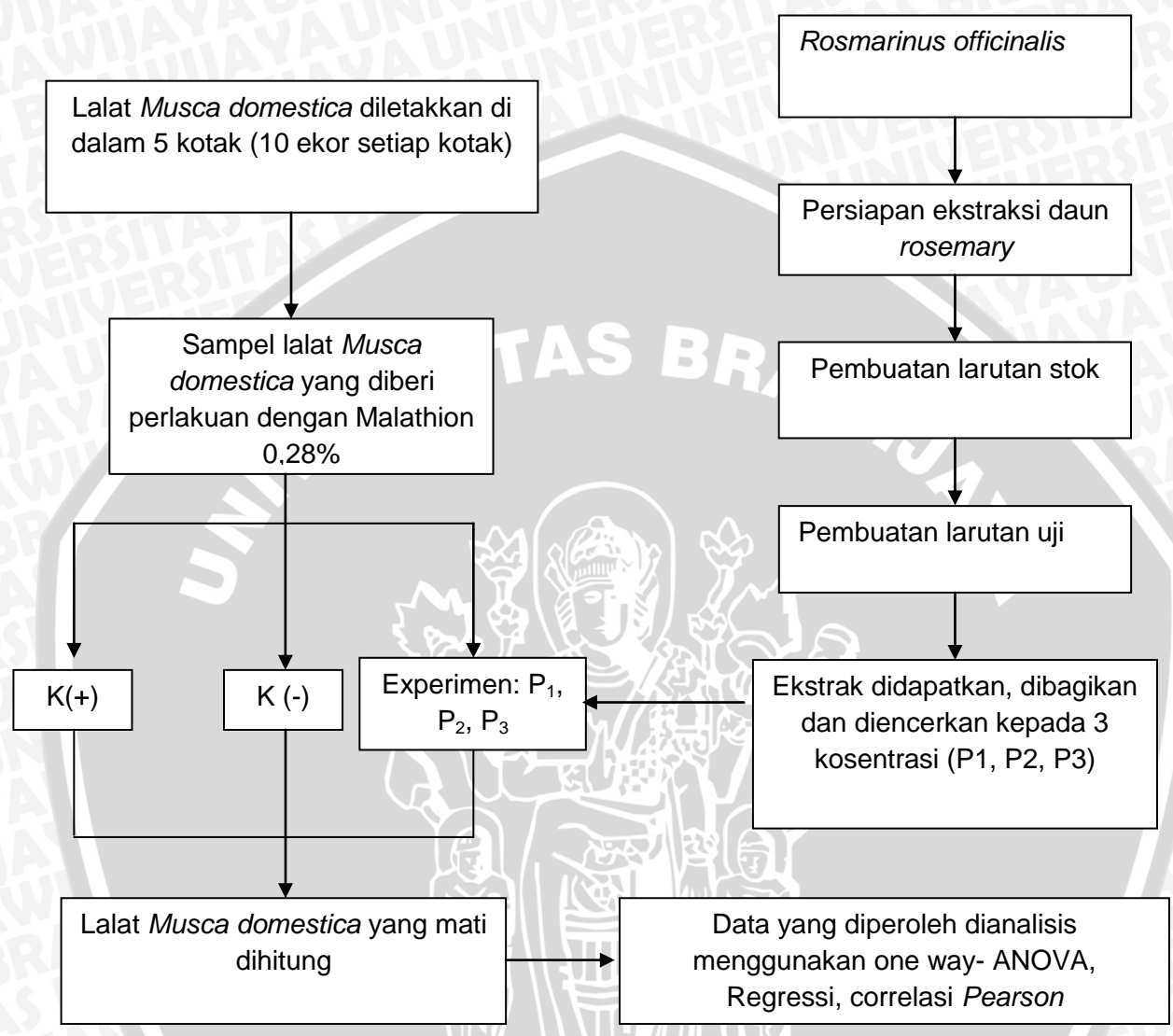
- a) 10 ekor lalat *Musca domestica* dewasa dimasukkan ke dalam kandang pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol.
- b) Ekstrak daun *rosemary* dengan konsentrasi tertentu dipersiapkan.
- c) Pada saat akan digunakan, diambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, kontrol positif, kontrol negatif) 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 *rosemary* 5 % sebanyak 4 ml.

- h) Kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun *rosemary* 7.5 % sebanyak 4 ml.
- i) Kandang 5 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun *rosemary* 10 % sebanyak 4 ml.
- j) Jumlah lalat *Musca domestica* yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap 1 jam selama 6 jam dan selanjutnya pada jam ke 24.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan



Gambar 4.1 Diagram Alur kerja Penelitian

Keterangan:

- K1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml Malathion 0,28% (kontrol positif)
- P1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 5 %
- P2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 7.5 %

- P3 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 10 %
- K2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml aquades (kontrol negatif)

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 *rosemary* dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus:

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

Keterangan:

- A1 : Persentase kematian lalat *Musca domestica* setelah koreksi
- A : Persentase kematian lalat *Musca domestica* uji
- B : Persentase kematian lalat *Musca domestica* 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 (wajib) - 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 (wajib) - 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 berkait 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* 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 *rosemary* dengan jumlah kematian lalat *Musca domestica* dewasa. 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.