

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi insektisida ekstrak daun sirsat (*Annona Muricata*) terhadap telur *Musca* sp. Dewasa sehingga dilakukan penelitian dengan memberi perlakuan kepada *Musca* sp. Yang terpilih secara acak (randomisasi) dengan beberapa konsentrasi ekstrak yang dipaparkan. Kemudian dilakukan observasi (perhitungan jumlah *Musca* sp. yang mati) pada menit ke 20,40,60 dan 24 jam, sehingga penelitian merupakan eksperimental laboratoris dengan rancangan *true* eksperimental- post test only control group design.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi yang akan di gunakan dalam penelitian ini adalah lalat rumah dewasa (*Musca domestica*) yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi. Sedang kriteria eksklusi yaitu semua lalat rumah yang tidak termasuk dalam kriteria inklusi.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah

- Lalat *Musca* sp. yang diambil langsung di Tempat Pembuangan akhir (TPA) pada hari dan waktu yang sama.
- Aktif bergerak dan bisa terbang.
- Tidak ada kecacatan pada tubuh lalat.

4.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah lalat rumah (*Musca domestica*) dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan telah diseleksi dan didapatkan dari hasil penangkapan di sekitar lingkungan laboratorium penulis dan tempat-tempat yang menjadi sarang lalat. Digunakan 10 ekor lalat rumah pada masing-masing kandang.

Pada percobaan ini menggunakan 3 perlakuan, 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif. Rumus untuk banyaknya pengulangan yaitu :

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

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

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

$$5n-5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

$$n = 4$$

Keterangan :

P : Jumlah perlakuan yang dilakukan

N : jumlah pengulangan



Jadi dari hasil perhitungan didapatkan pengulangan yang dilakukan data penelitian ini minimal 4 kali jadi dibutuhkan total 200 ekor lalat *Musca sp.* dewasa. Tiap perlakuan membutuhkan 10 ekor lalat dewasa maka setiap kali percobaan membutuhkan 3 kali perlakuan, 1 kontrol positif dan 1 kontrol negative sehingga jumlah 50 ekor dan dilihat pengaruhnya pada menit ke- 20,40,60 dan 24 jam

4.3 Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4 Variabel dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah insektisida ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi yang digunakan adalah 15%,20%,25% yang ditentukan terlebih dahulu melalui uji eksplorasi.

4.4.2 Variable tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah lalat rumah (*Musca domestica*) yang mati setelah di semprot dengan insektisida ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) dengan konsentrasi yang berbeda.

4.4.3 Definisi Operasional

- Lalat musca sp. dewasa adalah lalat dewasa yang memenuhi syarat sampel .
- Daun sirsak (*Annona muricata*) yang di gunakan pada penelitian ini adalah daun yang cukup tua dengan ciri berwarna hijau tua serta dipetik setinggi cabang keempat dan kelima
- Ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata*) adalah daun sirsak yang sudah dikeringkan yang kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol dan dianggap memiliki kandungan ekstrak sebesar 100%

- Metode semprot yang digunakan dengan menyemprot larutan ekstrak daun sirsak menggunakan sprayer, dalam bentuk butiran cairan semprot kurang lebih 40 semprot/cm atau sebanyak 3 ml merata ke segala arah.
- Kontrol positif yang digunakan adalah larutan melathion 0,28%. Control negatif yang digunakan adalah aquades steril.
- Kotak sangkar kaca adalah kotak berukuran 25cm x 25cm x 25cm yang dibuat dengan memodifikasi sangkar dan menempelkan kaca pada semua sisi kecuali tempat memasukkan lalat dan penyemprotan.
- Presentase potensi ekstrak daun sirsak sebagai insektisida dihitung dengan formula abbot adalah sebagai berikut (suwasono,2004):

$$A1 = A - B \times 100\%$$

Keterangan :

- A1 : presentase kematian lalat setelah koreksi
A2 : presentase kematian lalat uji
B : presentase kematian lalat kontrol negatif

4.5 Instrumen Penelitian dan bahan Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di bagi menjadi 3 kelompok :

1. Bahan-bahan untuk pengambilan bahan alami daun sirsak (dengan cara ekstrak)
 - Ekstrak daun sirsak
 - Aquades
2. Bahan untuk persiapan lalat *musca domestica* :
 - Larutan glukosa 10%

3. Bahan untuk diuji potensi insektisida ekstrak daun sirsak terhadap lalat *Musca domestica*

- Larutan ekstrak daun sirsak konsentrasi 15% ,20%,25%
- Lalat dewasa *Musca domestica*
- Aquades steril
- Air gula (glukosa 10%)
- Larutan malathion 0,28%

4.5.2 Instrumen Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini di bagi menjadi 2 kelompok ;

1. Alat-alat ekstraksi dan evaporasi ekstrak daun sirsak yaitu :

- Blender
- Pelarut ekstrak (etanol)
- Corong gelas
- Gelas ukur
- Labu elenmeyer atau beaker glass(dengan volume 1 liter) untuk merendam bubuk ekstrak daun sirsak
- 1 set alat evaporasi, terdiri dari : labu penampung, pendingin spiral, labu rotasi ekstraksi, waterbath dan vakum, klem statis, selang plastic, waterpum, bak penampung aquades, tabung penampung hasil ekstraksi.
- Oven
- Neraca analitik
- Freezer / lemari es
- Alat penggerus dan kertas penyaring

2. Alat-alat untuk persiapan lalat *Musca domestica* :

- Sangkar kaca (25 cm x 25 cm x 25 cm)
- Jaring serangga

3. Alat-alat untuk uji insektisida dari ekstrak daun sirsat terhadap lalat

Musca domestica :

- Sangkar kaca (25cm x 25 cm x 25 cm)
- Sprayer
- Timer
- Gelas ukur

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Persiapan Penelitian

4.6.1.1 Ekstraksi dan Evaporasi Daun Sirsak (*Annona muricata*)

Persiapan penelitian yang dilakukan yaitu pembuatan ekstrak daun sirsak. Daun sirsak yang akan diekstraksi diperoleh dari daerah rumah. Kemudian daun sirsak yang telah didapatkan diekstraksi dengan cara maserasi yaitu dengan pelarut etanol 96%. Adapun prosesnya sebagai berikut :

1. Daun sirsak yang telah disiapkan dipotong kecil-kecil
2. Daun sirsak yang telah dipotong dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung atau diangin-anginkan selama 1 jam kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu oven 60-80 c selama 12 jam. Bila tidak ada oven dilakukan dibawah sinar matahari langsung selama 2 hari berturut-turut selama 5-6 jam. Proses pengeringan ini dilakukan sampai daun

sirsak benar-benar kering (kurang lebih berkadar air 5%). Untuk memenuhi standar kekeringan daun dilakukan peremasan daun dan bila daun tersebut hancur berarti memenuhi standar kekeringan daun.

3. Setelah kering daun sirsak diblender dan didapatkan 100 gram serbuk daun sirsak
4. Serbuk daun sirsak tersebut kemudian dibungkus kertas saring lalu dimasukkan ke dalam botol untuk direndam dengan etanol.
5. Pelarut etanol dimasukkan ke dalam botol dengan perbandingan 100 gram serbuk daun sirsak dalam 1 liter etanol sampai serbuk yang terbungkus kertas saring tersebut terendam dalam pelarut etanol selama kurang lebih 1 minggu. Selama perendaman, etanol diganti 2 kali yaitu hari ke 3 dan 5 agar bahan aktif yang terkandung dapat keluar dan larut dalam etanol .
6. Hasil ini selanjutnya dievaporasi.
7. Proses selanjutnya adalah proses evaporasi yang bertujuan memisahkan hasil ekstrak yang didapat dengan pelarut etanolnya. Adapun prosesnya adalah sebagai berikut :
 - a. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30-40
 - b. Hasil rendaman etanol dipisahkan ke labu pemisah ekstraksi
 - c. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian evaporator, pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik, pendingin spiral dihubungkan dengan water pump dengan selang plastik.

- d. Water pump ditempatkan dalam bak yang berisi aquadest, water pump dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquadest akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata)
 - e. Satu set alat evaporasi diletakkan sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquadest pada water bath.
 - f. Vakum dan water bath dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhu pada water bath 70 c
 - g. Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporai tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60 c selama 1-2 hari
 - h. Ekstrak yang berupa minyak kental inilah yang digunakan dalam percobaan
8. Hasil ekstrak ini ditimbang dengan timbangan analitik menghasilkan 16 ml dan disimpan didalam lemari es untuk memperlambat kerusakan.

4.6.1.2 Penyiapan Larutan Uji

Ekstrak pekat daun sirsak (*Annona muricata*) yang tersimpan di lemari es disesuaikan suhunya dengan suhu kamar dengan cara membiarkannya di udara kamar selama 15 menit dan dianggap berkonsentrasi 100%. Selanjutnya untuk mendapatkan 100 ml larutan stok 50% dilakukan pengenceran dengan cara 50 ml ekstrak 100% ditambah dengan 50 ml pelarut (aquadest dan aseton 1%). Aseton digunakan sebagai emulgator.

4.6.1.3 Pembuatan Larutan Perlakuan

Larutan uji 50% diambil menurut konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan rumus pengenceran:

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

Keterangan :

M1 : Konsentrasi larutan uji
V1 : Volume larutan uji
M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan
V2 : Volume larutan perlakuan

4.6.2 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bersifat trial and error yang bertujuan untuk memperoleh konsentrasi minimal ekstrak daun sirsak yang dapat membunuh lalat *Musca domestica* Dalam jumlah maksimal. Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini yaitu 30%,25%,20%,15%, dan 10%. Selanjutnya setelah ditemukan 25% sebagai Lethal dose pada jam ke 24 yang menghasilkan 10 lalat yang mati konsentrasi tersebut digunakan sebagai dasar untuk menetapkan konsentrasi pada pelaksanaan penelitian.

4.6.3 Pelaksanaan Penelitian

Adapun proses uji potensi ekstrak daun sirsak sebagai insektisida adalah sebagai berikut :

1. Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kotak berdingding kaca dan berbentuk bujur sangkar berukuran $25 \times 25 \times 25 \text{ cm}^3$ diletakkan dalam ruang dengan temperature $27 \pm 2 \text{ C}$ dan tingkat kelembaban antara 60-70%.

2. Ekstrak daun sirsak dengan tiga konsentrasi berbeda dipersiapkan.
3. Pada saat akan digunakan, ambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, control positif, dan control negatif) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer.
4. Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing-masing kandang sampai habis.
5. Kandang 1 disemprot dengan menggunakan air + aseton 1% sebanyak 4 ml (sebagai control negatif).
6. Kandang 2 disemprot dengan menggunakan malathion 0,28% sebanyak 4 ml (sebagai control positif).
7. Kandang 3,4,5 disemprot dengan menggunakan tiga konsentrasi yang berbeda dari ekstrak daun sirsat masing-masing sebanyak 4 ml
8. Jumlah lalat yang mati pada setiap perlakuan dihitung setelah penyemprotan setiap 10 menit sampai satu jam serta 24 jam setelah penyimpanan di laboratorium
9. Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan.
10. Persentase potensi ekstrak daun sirsak sebagai insektisida dihitung dengan formula abott adalah sebagai berikut

$$A1 = A - B \times 100 \%$$

Keterangan :

- A1 : persentase kematian lalat setelah koreksi
- A : persentase kematian lalat uji
- B : persentase kematian nyamuk control negative

4.7 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimasukkan kedalam table dan diklasifikasikan menurut jumlah lalat yang mati, pengulangan, dan konsentrasi. Dari tabel tersebut, hasilnya akan dianalisis lalu dilakukan uji statistik.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dibuat berdasarkan penghitungan jumlah lalat yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak daun sirsak dan dinyatakan sebagai potensi insektisida. Analisa data dilakukan dengan uji One-way Anova jika syarat uji parametric (sebaran data harus normal dan data harus homogeny) terpenuhi dan dilanjutkan Post Hoc test.

Namun jika data hasil penelitian tidak memenuhi syarat tersebut, maka dilakukan Uji Kruskal-walliss sebagai uji alternatif dari uji One-way anova dan dilanjutkan dengan Uji Mann-whitney. Namun jika syarat uji paramedik tidak terpenuhi, maka dilakukan uji korelasi Spermman sebagai uji alternatifnya. Tujuan digunakannya uji One-way Anova atau uji Kruskal-Wallis adalah untuk menganalisis apakah ekstrak daun sirsak memberikan pengaruh sebagai insektisida terhadap lalat *Musca Domestica* dengan melihat nilai signifikansi. Sedangkan Pos Hoc test atau uji Mann-Whitney bertujuan untuk melihat kelompok perlakuan mana yang berbeda secara bermakna terhadap kematian lalat uji. Selanjutnya dilakukan uji korelasi Pearson untuk mengetahui korelasi antara lamanya waktu kontak (paparan) dengan besarnya potensi ekstrak daun sirsak.

4.9 Diagram Alur Penelitian

