BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan true experimental post test only control group design yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan efek ekstrak umbi rumput teki (Cyperus Rotundus) dengan cara semprot sebagai insektisida terhadap nyamuk Culex sp setelah perlakuan

4.2 Populasi dan sample penelitian

Penelitian ini menggunakan nyamuk culexn 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 sampling

Besar sampling ditentukan oleh jumlah sample setiap kandang, jumlah perlakuan dan jumlah pengulangan yang dilakukan. Dalam penelitian ini, digunakan jumlah sampel setiap kandang sebanyak 25 ekor nyamuk dengan 5 kelompok perlakua, yaitu 3 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif (Malation 0.28 mg/L) dan 1 kelompok control negative (aquades). Jumlah pengulangan ditentukan dengan menggunakan rumus

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

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

$$N-1 \geq 3.2$$

$$n \geq 4.2 - 4$$

Keterangan :

P = Jumlah perlakuan

N = Jumlah pengulangan tiap perlakuan

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

Besar sampel = Jumlah sampel setiap kandang x jumlah perlakuan x jumlah pengulangan

= 25 ekor x 5 ekor perlakuan x 4 pengulangan

= 500 ekor

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan oktober 2013.

4.5 Identifikasi Variabel

4.5.1 Variabel Tergantung (Dependent)

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

4.5.2 Variabel Bebas (Independent)

Variabel bebas yang digunakan dalam ini adalah konsentrasi ekstrak umbi rumput teki (Cyperus Rotundus) dan waktu percobaan (dalam jam)

4.6 Definisi Operasional

a. Umbi Rumput Teki : Tumbuhan liar yang ada pada lebih 90 negara dan merupakan hama yang paling invasif berdasarkan distribusinya dan efeknya terhadap tanaman.

b. Ekstrak Umbi Rumput Teki : Ekstrak yang dihasilkan di laboratorium Pertanian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan konsentrasi 30% 40% dan 50% (Volume) dengan metode “Technique of simple extraction “ menggunakan pelarut ethanol murni 96%.

c. Metode Semprot adalah cara untuk menyebarkan partikel cairan dengan bantuan alat semprotan.

d. Potensi insektisida adalh daya untuk membunuh nyamuk Culez sp dalam waktu 24 jam. Potensi insektisida diolah menggunakan formula abbot untuk dan hitung jumlah yang mati.

4.7 Alat Dan Bahan Uji Potensi Ekstrak Umbi Rumput Teki

Alat dan bahan yang diperlukan :

- Sprayer
- Kandang berukuran 25cm x 25cm x 25cm
- Pinset
- Ekstrak Umbi Rumput Teki
- Nyamuk Culex sp
- Malation 0,28%(mg/L) dan aquades

4.8 Cara Kerja Penelitian

4.8.1 Ekstraksi dan Evaporasi Daun Tembakau

4.8.1.1 Proses Ekstraksi

Proses Ekstraksi Umbi Rumput Teki (cyperus rotundus) dilakukan berdasarkan tatacara pelaksanaan ekstraksi “Technique of Simple Extraction“ yang terdapat dalam buku eksperimen kimia organic “ An Introduction To Modern Experimental Organic Chemistery“ (H.William, 2003) dengan etanol 96% sebagai pelarutnya. Adapun prosesnya sebagai berikut :

- Umbi Rumput Teki (Cyperus Rotundus) dengan berat kering 100 g dicuci dengan air bersih yang mengalir.
- Setelah dicuci umbi rumput teki di irirs tipis dan dikeringkan dengan sinar matahari kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu oven 60-80◦C agar umbi tersebut menjadi kering sempurna.
- Setelah kering umbi rumput teki tersebut di haluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya.
- Serbuk umbi rumput teki dengan berat kering 100 g dimasukkan ke dalam botol 1,5 L untuk direndam dengan etanol 80 % selama 24 jam untuk memastikan umbi rumput teki di larut di etanol dengan sempurna.
- Hasil rendaman selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak dan umbin rumput teki dengan pelarut etanol)

4.8.1.2 Proses Evaporasi

Proses evaporasi bertujuan untuk memisahkan hasil ekstrak yang telah didapatkan dengan pelarut etanol. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30^{o}C - 40^{o}C terhadap meja percobaan. Hasil rendaman etanol yang berupa larutan dipindahkan ke labu ekstraksi. Labu pemisah ekstraksi di hubungkan pada bagian bawah evaporator, pendingin spiral di hubungkan pada bagian atas evaporator, pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastic, pendingin spiral dihubungkan dengan water pump dengan selang plastic.

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 diletakan,sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada

water bath.Vakum dan Water bath dihubungkan dengan sumber listrik dar, dinaikkan suhu pada water bath sekitar 70◦C (sesuai dengan titik didih etanol).

Sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama kurang lebih 2-3 jam. Selain itu hasil evaporasi dipanaskan dalam oven dengan suhu 50-60◦C selama 1-2 hari. Hasil ahir yang berupa minyak kental dan beraroma khas dari umbi rumput teki inilah yang akan digunakan dalam percobaan ini.

4.9 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 umbi rumput teki ditumbuk menggunakan mortar sehingga homogen. Cairan pelarut yang digunakan adalah larutan aquades. Larutan stok ekstrak umbi rumput teki dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji.

4.9.1 Pelaksanaan Penelitian

Aquades ditambah untuk pengenceran pertama kali pada larutan stok umbi rumput teki konsentrasi 100%. Larutan uji diambil dari larutan stok ekstrak umbi rumput teki dan disiapkan dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 30%, 40%,dan 50%(V/V).

Pembuatan dosis dengan cara pengenceran ddari 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)

4.9.2 Cara Kerja

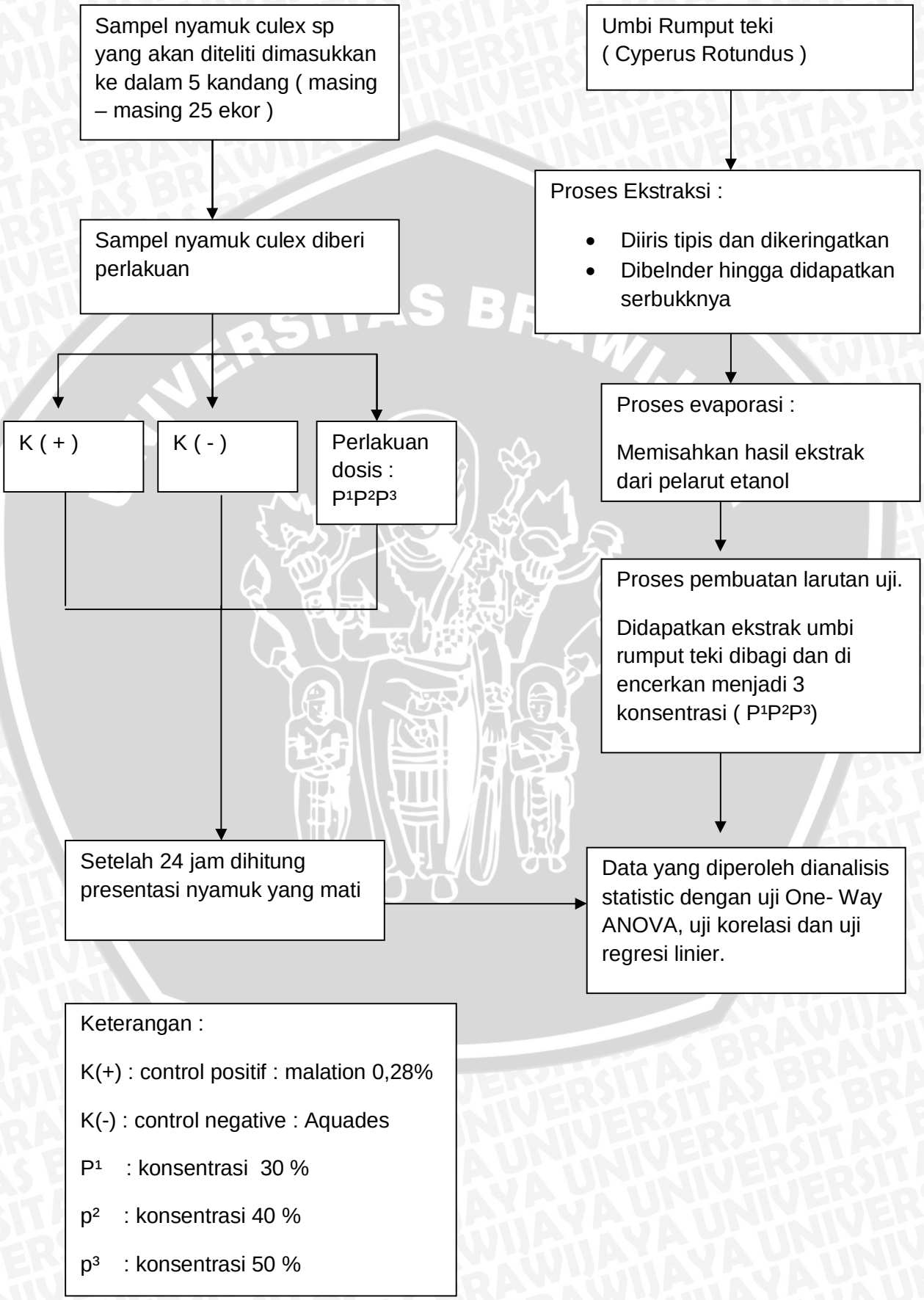
Penelitian ini adalah menggunakan dengan cara kerja berikut :

- Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 kandang yang kuboid berukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm diletakkan didalam ruang dengan suhu kamar dan tingkat kelembapan antarqa 60-70 % .
- Ekstrak etanol umbi rumput teki (cyperus rotundus) diencerkan sehingga berkadar 20%,30% dan 40% (V/V) dengan 0,28 mg/l malation dengan aquades menggunakan formula M1V1 = M2V2.
- Masing masing konsentrasi dimasukkan ke dalam alat semprot yang berbentuk silinder yang berukuran 4 ml.
- Nyamuk dimasukkan sebnayak 25 ekor pada setiap kandang
- Semua bahan yang di masukkan ke dalam alat semprot di semprotkan ke dalam kandang .
- Pengamatan terhadapa perlakuan dilakukan setelah waktu penyemprotan selesai dan diamati setelah 1 jam 2 jam 3 jam 4 jam 5 jam dan 24 jam kemudian jumlah nyamuk yang mati di hitung
- Pengulangan dilakukan sebnyak 4 kali untuk masing masing perlakuan
- Data jumlah nyamuk uji yang mati pada berbgai 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

4.10 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimaksukkan ke dalam tabel dan diklarifikasikan menurut jumlah nyamuk yang mati, pengulangan, konsentrasi. Dari table tersebut selanjutnya dilakukan uji statistik.

4.11 Pengelolahan dan Analisa Data

Pengelolahan dan analisa data dibuat berdasarkan jumlah nyamuk yang mati untuk tiap tiap konsentrasi larutan uji ekstrak umbi rumput teki. Jumlah nyamuk yang mati pada setiap waktu pengamatan, dihitung menggunakan rumus *Abbot* dan dinyatakan sebagai potensi insektisida. Analisis data dilakukan dengan uji one way *ANOVA* (*Analysis of varience*) jika syarat uji parametric (sebaran data normal dan data homogen) terpenuhi dan dilanjutkan *Post Hoc Test.*

4.12 Diagram alur kerja penelitian