

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 Kayu Manis (*Cinnamamon Cassia*) dengan menggunakan metode semprotan sebagai insektisida terhadap nyamuk dan lalat.

4.2 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan maret 2016 dan berakhir pada bulan april 2016.

4.3 Populasi dan Besar Sampel

Jumlah sampel : Pada penelitian ini digunakan sampel nyamuk 25 ekor dalam satu kandang dan 10 ekor lalat dalam 1 kandang

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

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah:
 - Nyamuk dan Lalat yang hidup.
 - Nyamuk dan Lalat yang aktif bergerak.
- Kriteria eksklusi penelitain ini adalah:
 - .Lalat yang cacat

4.3.1 Perlakuan

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

1. Kontrol negatif :

Aseton 1% terhadap lalat *Musca Domestica* dan nyamuk *Culex sp*

2. Perlakuan I:

Larutan ekstrak Kayu Manis (*Cinnamamon cassia*) 10 % terhadap lalat *Musca Domestica*

3. Perlakuan II:

Larutan ekstrak Kayu Manis (*Cinnamamon Cassia*) 10 % terhadap nyamuk *Culex sp*

4.3.2 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:

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

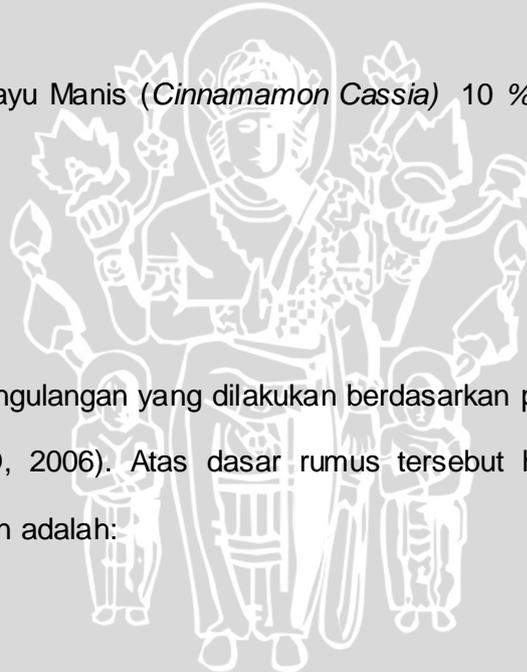
$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5 \text{ (Lukito 1998)}$$

keterangan:

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan



Jadi, berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini minimal adalah 5 kali.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel *Dependent* (terikat)

Variabel *dependent* (variabel terikat) penelitian ini adalah presentase kematian nyamuk *Culex sp* dan lalat *Musca domestica* dewasa pada waktu penelitian.

4.4.2 Variabel *Independent* (bebas)

Variabel *independent* adalah waktu pengamatan ekstrak ethanol kayu manis 10 % terhadap lalat *Musca Domestica* dan nyamuk *Culex sp*

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

- ❖ Alat Untuk Uji Insektisida nyamuk *Culex sp* dan lalat *Musca domestica*.
 - 2 Kandang berukuran 25 cm x 25 cm x 25cm
 - *Spray* / alat penyemprot
 - Pinset
 - Masker
 - *Glove*

Alat Untuk Uji Ekstrak kayu manis (*Cinnamamon cassia*)

1. Blender
2. Tabung untuk merendam serbuk kayu manis 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

4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum cassia*) dan bahan uji kemampuan zat insektisida.

Bahan Pembuatan Ekstrak Kayu manis (*Cinnamomum cassia*)

1. Kayu manis (*Cinnamomum cassia*)
2. Akuades
3. Etanol 96%
4. Aseton

Bahan uji kemampuan zat insektisida.

1. Ekstrak kayu manis
2. Akuades
3. Lalat dan nyamuk

4.6 Definisi Operasional

- Ekstrak Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) adalah hasil evaporasi dan ekstraksi Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) yang berasal dari Kebun Pancursari PT Perkebunan Negara (PTPN) XII Wilayah Malang (Kementerian BUMN, 2012) yang dibuat dengan mengeringkan 1,5 kilogram kayu manis sehingga didapatkan 500gram kayu manis, kemudian dengan menggunakan pelarut etanol 1liter.(Kementerian BUMN, 2012)
- Larutan yang berasal dari ekstraksi kayu manis dianggap memiliki kandungan 100%
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut ekstrak kayu manis yang tidak memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif aseton karena aseton merupakan pelarut dalam pembuatan ekstrak kayu manis.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak kayu manis dalam mematikan Lalat *Musca Domestica* dan nyamuk *culex sp* dibanding dengan kontrol negatif.
- Untuk konsentrasi yang telah ditetapkan, operasional diulang sebanyak 5 kali.

4.7 Persiapan Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Kayu manis (*Cinnamomum cassia*)

Proses ekstraksi Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) dilakukan dengan cara maserasi

- Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) diiris kemudian dijemur sampai kering, setelah itu kayu manis yang kering dihaluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.
- 500 gram serbuk kayu manis 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 kayu manis sudah jernih (setelah satu minggu).
- Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Kayu manis (*Cinnamomum cassia*)

- 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 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 Ekstrak Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) yang berupa pasta kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

4.7.3 Cara Pembuatan Larutan Stok

Cairan pelarut ekstrak kayu manis yang digunakan adalah larutan aseton. Larutan stok ekstrak kayu manis dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji. (Wong Shu Tung)

4.7.4 Penyiapan larutan uji

Larutan stok ekstrak kayu manis diencerkan dengan aseton 1% hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

- M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak kayu manis
- M2 : Konsentrasi larutan ekstrak kayu manis 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

Nyamuk *Culex sp* dan Lalat *Musca domestica* dewasa dimasukkan ke dalam kandang. Masing-masing kelompok coba memiliki 25 Nyamuk *Culex sp* dan 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 aseton 1% sejumlah 4 ml pada Nyamuk *Culex sp* dan lalat *Musca domestica* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari aseton.

4.7.4 Alur Kerja Penelitian Racun Kontak Menurut WHO

Atas dasar hasil penelitian pendahuluan dilakukan penelitian utama untuk mengetahui konsentrasi ekstrak kayu manis yang lebih tepat sebagai insektisida. Pada penelitian utama digunakan konsentrasi X%, yang telah diteliti terlebih dahulu terhadap nyamuk. Untuk penelitian utama digunakan 4 buah kandang berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 cm³ diletakkan dalam ruang dalam suhu kamar.

- a) 25 ekr Nyamuk *Culex sp* dan 10 ekor lalat *Musca domestica* dewasa dimasukkan ke dalam kandang masing- masing pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol.
- b) Ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 10 % dipersiapkan.

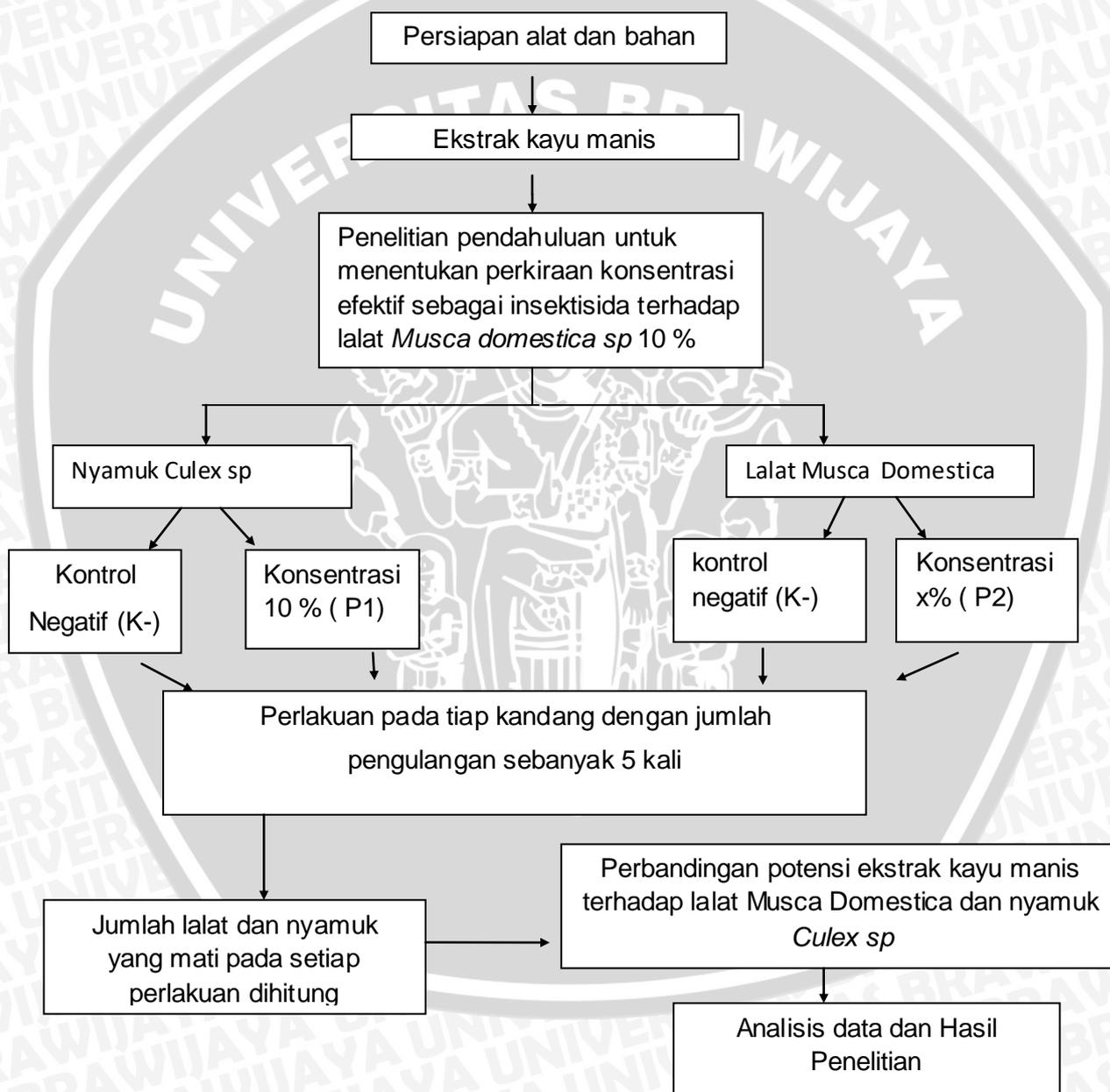
- c) Pada saat akan digunakan, ambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, dan kontrol negatif) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer.
- d) Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing – masing kandang sampai habis.
- e) Nyamuk *Culex sp* di kandang 1 disemprot dengan menggunakan larutan aseton 1% sejumlah 4 ml (sebagai kontrol negatif).
- f) Nyamuk *Culex sp* di kandang 2 disemprot dengan menggunakan ekstrak kayu manis 10 % sebanyak 4 ml.
- g) Lalat *Musca Domestica* di kandang 3 disemprot dengan larutan aseton 1% sejumlah 4 ml.
- h) Lalat *Musca Domestica* di kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak kayu manis 10 % sebanyak 4 ml.
- i) Jumlah Nyamuk *Culex sp* lalat *Musca domestica* yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap menit 10,20,30,40, dan 50
- j) Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 5 kali untuk setiap perlakuan.

Diagram Alur Penelitian

Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dicari untuk mengetahui potensi ekstrak kayu manis(LD 100) terhadap lalat musca domestica dalam kosentrasi 10 %.

Penelitian Utama



Gambar 4.1 Diagram Alur kerja Penelitian

Keterangan:

- P1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 10 % terhadap nyamuk *Culex sp*
P2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 10 % terhadap lalat *Musca Domestica*
K- : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml Aseton 1 % (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* dan Nyamuk *Culex sp* dewasa setelah 50 menit, pengulangan dan konsentrasi.

4.9 Metode Pengukuran Potensi Insektisida

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

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

Keterangan:

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

4.10 Analisis Data Penelitian

Analisis data yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *One-Way ANOVA*, dan Uji Post Hoc Test (uji *Duncan Test*) menggunakan software SPSS 21.0 dengan uji normalitas dan homogenitas sebelumnya dengan langkah sebagai berikut :

1. Memeriksa syarat ANOVA (*One-way Analysis of Variance*) untuk > 2 kelompok tidak berpasangan :
 - a. Distribusi data harus normal (wajib)
 - b. Varians data harus sama (wajib)
2. Jika memenuhi syarat (distribusi data normal, varians data sama) maka dipilih uji *One-way ANOVA (One-way Analysis of Variance)*
3. Jika tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi menjadi normal dan varians menjadi sama
4. Jika variabel hasil transformasi tidak terdistribusi normal atau varians tetap tidak sama, maka alternatifnya dipilih uji Kruskal-Wallis.
5. Jika pada uji ANOVA (*One-way Analysis of Variance* atau Kruskal-Wallis menghasilkan nilai $p < 0,005$ maka dilanjutkan dengan melakukan analisis Post Hoc Test (uji *Duncan Test*) (Dahlan, 2008).

