

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. DESAIN PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni untuk menguji efikasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa*) terhadap larva kutu beras (*Tenebrio molitor*) dengan rancang penelitian *post test only control group design*.

#### **B. POPULASI DAN SAMPEL**

##### **1. Populasi**

Larva *T. molitor* yang diperoleh dari tepung yang dibiakkan dalam kontainer.

##### **2. Sampel uji**

- a. Seratus tiga puluh lima ekor larva *T. molitor*
- b. Lima ekor larva pada setiap kelompok perlakuan

Terdapat 9 kelompok penelitian, yaitu: kelompok kontrol positif (menggunakan malathion 5%), kelompok kontrol negatif (menggunakan akuades), dan kelompok perlakuan (ekstrak daun srikaya 100%, 75%,

50%, 25%, 10%, 5%, dan 0,1%). Reliabilitas diperoleh dengan melakukan replikasi sebanyak 3 kali pada setiap kelompok.

### 3. Kriteria inklusi

Larva *T. molitor* berukuran 0,5 – 1 cm yang berwarna kuning madu.

### 4. Kriteria eksklusi

Larva *T. molitor* yang tubuhnya tidak utuh.

## C. VARIABEL PENELITIAN

### 1. Variabel bebas

Rangkaian konsentrasi ekstrak daun srikaya (*A. squamosa*) yaitu 100%; 75%; 50%; 25%; 10%; 5%; dan 0,1%.

### 2. Variable tergantung

a. LD<sub>50</sub>

b. LT<sub>50</sub>

### 3. Variabel tak dikendalikan

a. Usia larva *T. molitor*

b. Suhu dan kelembaban ruangan

4. Variable terkendali

a. Ukuran larva *T. molitor*

b. Asal-usul tanaman srikaya (*A. squamosa*) yang digunakan untuk pembuatan ekstrak.

**D. DEFINISI OPERASIONAL**

1. Konsentrasi

Konsentrasi ekstrak daun srikaya (*A. squamosa*) yang dilarutkan dalam akuades.

2. LD<sub>50</sub>

Rata-rata dosis bahan uji yang dapat membunuh 50% larva *T. molitor*.

3. LT<sub>50</sub>

Rata-rata waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva *T. molitor*.

4. Asal-usul

## 6. Suhu dan kelembaban

Suhu dan kelembaban ruangan.

## E. INSTRUMEN PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Ekstrak daun srikaya (*A. squamosa*) dengan konsentrasi 100%; 75%; 50%; 25%; 10%; 5%; dan 0,1%.
- b. Insektisida kimia malathion dengan konsentrasi 5%.
- c. Akuades

### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Cawan petri, digunakan sebagai tempat perlakuan terhadap larva *T. molitor*.
- b. Kertas saring
- c. Sendok kecil, digunakan untuk mengambil larva *T. molitor* dan juga untuk mengoleskan ekstrak daun srikaya ke kertas saring.
- d. Pipet, untuk meneteskan malathion dan akuades ke kertas saring.
- e. Sarung tangan
- f. Kontainer, digunakan untuk tempat pembiakan *T. molitor*.

- g. Alat tulis

## F. PROSEDUR PENELITIAN

Penelitian telah dilakukan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UMY pada bulan November 2008 – Juni 2009. Sampel didapatkan dari pembiakan dalam kontainer yang berisi tepung.

### 1. Tahap Pelaksanaan

- a. Daun srikaya (*A. squamosa*) dideterminasi terlebih dulu lalu dipilih daun yang berwarna hijau tua.
- b. Ekstrak dibuat di LPPT UGM dengan cara sebagai berikut: daun srikaya (*A. squamosa*) dicuci dengan air lalu dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 45°C selama 48 jam. Daun kemudian diserbuk dengan mesin penyerbuk menggunakan saringan yang mempunyai lubang berdiameter 1mm. Ethanol 70% ditambahkan pada serbuk daun srikaya, diaduk selama 30 menit lalu didiamkan selama 24 jam. kemudian dilakukan penyaringan sebanyak 3 kali. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan vacuum rotary evaporator pemanas water bath dengan suhu 70°C. ekstrak kental lalu dituangkan ke dalam cawan porselin, dipanaskan dengan pemanas water bath sambil terus diaduk.

- c. Persiapan alat dan bahan. Bahan yang disiapkan yaitu akuades sebagai pelarut ekstrak dan sebagai kontrol negatif, malathion 5% sebagai kontrol positif, dan ekstrak daun srikaya (*A. squamosa*) untuk kelompok konsentrasi. Ekstrak daun srikaya (*A. squamosa*) dibuat dalam konsentrasi 100%; 75%; 50%; 25%; 10%; 5%; dan 0,1% dengan akuades sebagai pelarut.
- d. Pengelompokan hewan uji
- 1) Kelompok perlakuan
    - a) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 100%
    - b) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 75%
    - c) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 50%
    - d) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 25%
    - e) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 10%
    - f) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 5%
    - g) Ekstrak daun srikaya konsentrasi 0,1%
  - 2) Kelompok kontrol (+)

Larutan insektisida malathion konsentrasi 5%
  - 3) Kelompok kontrol (-)

Serangga diberi pemaparan akuades.

- e. Kertas saring diolesi dengan ekstrak daun srikaya untuk kelompok konsentrasi, diolesi malathion 5% untuk kelompok kontrol positif, dan diolesi akuades untuk kelompok kontrol negatif. Kertas saring tersebut lalu diletakkan mengalasi bagian dalam cawan petri.
- f. Dilakukan pengambilan larva *T. molitor* dari kontainer yang berisi tepung dengan menggunakan sendok kecil. Setiap kelompok perlakuan diberi lima ekor larva *T. molitor* dalam setiap cawan petri.
- g. Larva dimasukkan ke dalam petri, lalu petri ditutup.
- h. Percobaan dilakukan tiga kali untuk tiap kelompok.

## 2. Tahap Pengumpulan Data

Dilakukan pengamatan terhadap waktu dan jumlah kematian setiap kelompok perlakuan. Lamanya waktu pengamatan ditentukan setelah dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui waktu hidup terlama larva *T. molitor* di luar habitatnya.

## G. ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dihitung persentase rata-ratanya kemudian disajikan ke dalam bentuk tabel dan grafik. Analisis probit digunakan untuk menentukan  $LD_{50}$  dan  $LT_{50}$ . Analisis data dilanjutkan dengan one way anova untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara kelompok perlakuan.