

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. LD₅₀

b. LT₅₀

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. LD₅₀

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

3. LT₅₀

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.