

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimen ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kematian lalat rumah *Musca domestica* berdasarkan konsentrasi dan waktu kontak. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial, merupakan penelitian eksperimen yang menggunakan lebih dari satu perlakuan atau lebih dari satu variabel bebas. Variabel yang dikaji adalah konsentrasi pengaruh kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang terdiri dari ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (26,6%:40%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (33,3%:33,3%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (40%:26,6%) dan 0% sebagai kontrol. Waktu kontak yang terdiri dari 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit. Sehingga diperoleh 16 variasi (4x4). Secara lengkap variasi perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1

Variasi kombinasi konsentrasi dan waktu kontak ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kematian Lalat Rumah *Musca domestica*

Konsentrasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) (B) dan Ekstrak Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) (S) (%)				
Waktu Kontak	B dan S 0 %	B dan S (26,6%:40%)	B dan S (33,3%:33,3%)	B dan S (40%:26,6%)
(1) 30 menit	B ₀ ,S ₀ 1	B ₂₆ ,S ₄₀ 1	B ₃₃ ,S ₃₃ 1	A ₄₀ ,Z ₂₆ 1
(2) 60 menit	B ₀ ,S ₀ 2	B ₂₆ ,S ₄₀ 2	B ₃₃ ,S ₃₃ 2	A ₄₀ ,Z ₂₆ 2
(3) 90 menit	B ₀ ,S ₀ 3	B ₂₆ ,S ₄₀ 3	B ₃₃ ,S ₃₃ 3	A ₄₀ ,Z ₂₆ 3
(4) 120 menit	B ₀ ,S ₀ 4	B ₂₆ ,S ₄₀ 4	B ₃₃ ,S ₃₃ 4	A ₄₀ ,Z ₂₆ 4

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjungkarang Jurusan Kesehatan Lingkungan dan waktu penelitian dilakukan pada bulan April tahun 2021.

C. Subjek Penelitian

Menurut Mamik (2015), menyatakan bahwa jumlah minimal sampel pada penelitian eksperimen adalah 10 sampai 20 sampel. Sehingga atas dasar itu peneliti menggunakan sampel sebanyak 10 lalat rumah pada setiap kelompok, baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Penentuan jumlah pengulangan ini berdasarkan rumus perhitungan menurut suhaerah (2012), sebagai berikut :

$$t (r-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = *treatment* (jumlah perlakuan)

r = *replication* (jumlah pengulangan)

15 = derajat kebebasan umum

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(16 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$15 (r - 1) \geq 15$$

$$15 r - 15 \geq 15$$

$$15 r \geq 15+15$$

$$15 r \geq 30$$

$$r \geq \frac{30}{15} = 2$$

t = perlakuan

r = replikasi

Maka akan diperoleh 32 data penelitian yang terdiri dari 24 data perlakuan dan 8 data non-perlakuan (kontrol). Sehingga jumlah sampel lalat yang digunakan sebanyak 10 lalat pada masing-masing perlakuan maupun kontrol. Sehingga jumlah lalat yang dibutuhkan sebanyak 320 lalat (10 lalat x 32 lalat rumah *Musca domestica*).

Pada penelitian ini dilakukan blok sampel pada setiap pengulangan. Blok sampel disajikan sebagai berikut :

Tabel 3.2

Randomisasi Blok Sampel Replika 1

B ₀ ,S ₀ 1	B ₂₆ ,S ₄₀ 1	B ₃₃ ,S ₃₃ 1	A ₄₀ ,Z ₂₆ 1
B ₀ ,S ₀ 2	B ₂₆ ,S ₄₀ 2	B ₃₃ ,S ₃₃ 2	A ₄₀ ,Z ₂₆ 2
B ₀ ,S ₀ 3	B ₂₆ ,S ₄₀ 3	B ₃₃ ,S ₃₃ 3	A ₄₀ ,Z ₂₆ 3
B ₀ ,S ₀ 4	B ₂₆ ,S ₄₀ 4	B ₃₃ ,S ₃₃ 4	A ₄₀ ,Z ₂₆ 4

Tabel 3.3

Randomisasi Blok Sampel Replika 2

B ₀ ,S ₀ 1	B ₂₆ ,S ₄₀ 1	B ₃₃ ,S ₃₃ 1	A ₄₀ ,Z ₂₆ 1
B ₀ ,S ₀ 2	B ₂₆ ,S ₄₀ 2	B ₃₃ ,S ₃₃ 2	A ₄₀ ,Z ₂₆ 2
B ₀ ,S ₀ 3	B ₂₆ ,S ₄₀ 3	B ₃₃ ,S ₃₃ 3	A ₄₀ ,Z ₂₆ 3
B ₀ ,S ₀ 4	B ₂₆ ,S ₄₀ 4	B ₃₃ ,S ₃₃ 4	A ₄₀ ,Z ₂₆ 4

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi (0% sebagai kontrol, 26,6%, 33,3%, 40% sebagai perlakuan), konsentrasi ini di pilih berdasarkan penelitian Fitranillah,dkk (2020) uji daya tolak ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap lalat rumah *Musca domestica*) dengan menggunakan konsentrasi 0% sebagai kontrol, 10%, 15%, 20% sebagai perlakuan, dengan menggunakan waktu kontak selam 1 jam. Pada penelitian tersebut pada konsentrasi 20% paling efektif dalam

uji daya tolak terhadap lalat rumah *Musca domestica*. Sehingga konsentrasi diatas 20% diharapkan mampu membunuh lalat rumah *Musca domestica*. Maka konsentrasi yang digunakan 26,6% dan 33,3%.

Konsentrasi 40% Berdasarkan penelitian Famiyah, 2017 “Uji perbandingan efektivitas ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tobaccum*) dengan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian lalat rumah *Musca domestica* konsentrasi 60%, 70%, dan 80% dengan menggunakan waktu kontak selama 60 menit. Konsentrasi paling efektif 80%. Sehingga konsentrasi dibawah 80% diharapkan mampu membunuh lalat rumah *Musca domestica*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah lalat rumah *Musca domestica* yang mati.

E. Definisi Operasional

Tabel 3. 4
Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Konsentrasi kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) dan ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	Banyaknya ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) dan ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dengan 4 taraf yaitu ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (26,6%:40%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (33,3%:33,3%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (40%:26,6%) dan 0% sebagai kontrol	Volumetri	Observasi/ pengukuran	Persen (%) volume dalam konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (26,6%:40%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (33,3%:33,3%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (40%:26,6%) dan 0% sebagai kontrol	Interval
2	Lama waktu kontak	Lamanya lalat rumah <i>Musca domestica</i> yang mati kontak dengan ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) dan ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada waktu 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit.	Stopwatch	Observasi/ pengukuran	Jam (Diamati setiap 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit).	Interval
3	Jumlah kematian lalat rumah <i>Musca domestica</i>	Banyaknya lalat rumah <i>Musca domestica</i> yang mati setelah perlakuan dengan variasi ekstrak dan lama waktu kontak.	Manual	Observasi	Ekor	Rasio

F. Pengumpulan Data

Tabel 3. 5
Teknik Pengumpulan Data

No	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1	Konsentrasi kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) dan ekstrak daun sirsak (<i>Annona Muricata L.</i>)	1. Observasi 2. Alat ukur volumetri 3. Menggunakan rumus $M1.V1 = M2.V2$
2	Waktu Kontak	1. Observasi 2. Alat ukur stopwatch 3. Variasi kontak waktu 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit
3	Jumlah kematian lalat rumah <i>Musca domestica</i>	1. Observasi 2. Buku dan pulpen 3. Pengamatan dilakukan waktu 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit

G. Tahapan Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak

a. Alat

- 1) Tampah
- 2) Blander
- 3) Baskom
- 4) Saringan.
- 5) Neraca analitik/timbangan
- 6) Spatula/pengaduk

b. Bahan

- 1) Daun belimbing wuluh dan daun sirsak
- 2) Etanol 96%
- 3) Aquadest

c. Cara Kerja

1) Daun belimbing wuluh dan daun sirsak yang digunakan adalah daun belimbing wuluh dan daun sirsak yang masih sehat dan segar kemudian daun yang didapatkan dicuci menggunakan air bersih untuk membersihkan daun dari kotoran lalu ditiriskan, kemudian dilakukan proses menjemur daun sirsak, proses penjemuran daun belimbing wuluh dan sirsak dengan tujuan untuk mengeringkan daun belimbing wuluh dan daun sirsak hal ini untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kerusakan pada ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak sehingga dapat disimpan semakin lama. Setelah prosedur penjemuran daun berakhir selanjutnya daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk daun belimbing wuluh dan daun sirsak, serbuk ini dinamakan dengan simplisia yang akan digunakan dalam pembuatan ekstrak.

2) Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode meserasi, metode meserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara merendam sampel dengan sesekali dilakukan pengadukan meserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk daun belimbing wuluh 50 gr dan serbuk

daun sirsak 50 gr di masukan kedalam toples dengan merendamnya menggunakan larutan etanol 96 % masing- masing sebanyak 1500 ml atau 1,5 L dan kemudian ditutup, sesekali di aduk supaya benar-benar menyatu dalam keadaan tertutup.

3) Hasil maserasi atau perendaman dari larutan tersebut disaring untuk mendapatkan sarinya, kemudian selanjutnya melakukan penguapan pada hasil sarinya tersebut menggunakann *water bath*, dari penguapan tersebut untuk menghilangkan cairan penyari atau etanol yang di gunakan sehingga mendapatkan konsistensi ekstrak yang lebih pekat. Hasil ekstrak pekat daun belimbing wuluh dan daun sirsak yang didapatkan masing- masing yaitu 150 ml kemudian ekstrak tersebut dimasukan dalam wadah botol kaca ukuran 150 ml, berwarna gelap dan di tutup dengan menggunakan Alumunium foil dan penutup botol kemudian disimpan di dalam lemari pendingin.

4) Volume ekstrak yang dibutuhkan selama pembuatan berbagai macam konsentrasi yang diperlukan dapat digunakan rumus $M_1V_1 = M_2V_2$.

Keterangan :

M_1 = Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (%)

V_1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M_2 = konsentrasi ekstrak daun kemangi yang akan dibuat (%)

V_2 = Volume larutan (air + ekstrak) yang diinginkan (ml)

Penelitian ini menggunakan 3 konsentrasi perlakuan :

Sebesar ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak(26,6%:40%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (33,3%:33,3%), ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (40%:26,6%), dilarutkan dengan 100 ml aquadest.

a. Konsentrasi 26,6 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 26,6 \times 100 \\100 \times V_1 &= 2.660 \\V_1 &= \frac{2.660}{100} \\V_1 &= 26,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

b. Konsentrasi 33,3 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 33,3 \times 100 \\100 \times V_1 &= 3.330 \\V_1 &= \frac{3.330}{100} \\V_1 &= 33,3 \text{ ml}\end{aligned}$$

c. Konsentrasi 40%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 40 \times 100 \\100 \times V_1 &= 4000 \\V_1 &= \frac{4000}{100} \\V_1 &= 40 \text{ ml}\end{aligned}$$

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Alat

- 1) Botol 250 ml
- 2) Tabung kerucut Amber 50 ml
- 3) Beaker glass
- 4) Pipet ukur
- 5) Pipet tetes
- 6) Stopwatch
- 7) Label
- 8) Pulpen
- 9) Tabel hasil pengamatan

3. Bahan

- 1) Ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak
- 2) Lalat rumah *Musca domestica*

4. Cara Kerja

a) Lapisan Botol

- 1) Siapkan 16 botol uji yang akan digunakan untuk 1 pengulangan.
- 2) Beri label pada masing-masing botol uji sesuai dengan konsentrasi dan waktu kontak.
- 3) Untuk botol uji label 30 menit dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun sirsak (26,6%:40%), Tambahkan 2 ml larutan insektisida ke botol uji.
- 4) Lakukan langkah 3 untuk box uji yang sudah di beri label.
- 5) Ulangi Langkah 4 dengan 12 botol uji lainnya.

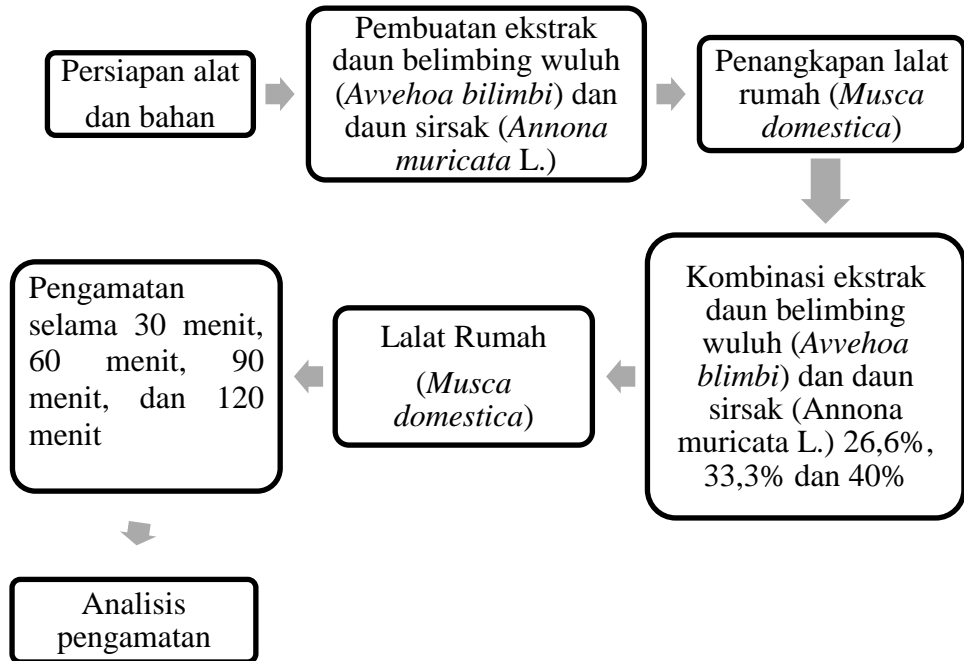
- 6) Putar isi di dalam botol uji pertama agar bagian bawahnya terlapisi.
- 7) Balikkan botol dan putar untuk melapisi bagian dalam tutupnya.
- 8) Ulangi Langkah 6–7 untuk botol uji lainnya.
- 9) Letakkan botol di sisinya sejenak agar isinya mengumpul. Gulingkan botol dengan hati-hati agar semua sisinya terlapisi.
- 10) Ulangi ini untuk semua botol.
- 11) Lepaskan tutupnya dan lanjutkan menggulung botol pada sisinya sampai semua tanda yang terlihat dari cairan hilang dari dalam, dan botol terlihat benar-benar kering.
- 12) Biarkan botol yang tidak tertutup pada sisinya dan tutupi botol dan tutupnya dengan sesuatu yang akan melindunginya dari cahaya.

b) Prosedur Bioassay

- 1) Tempatkan tutup dengan lembut di atas botol. Masukkan 10 lalat ke dalam botol kontrol.
- 2) Mulai pengatur waktu selama 30 menit. Pastikan untuk memeriksa botol pada waktu 0 dan menghitung jumlah lalat yang mungkin mati selama proses pemindahan.

Jika menemukan lalat yang mati pada waktu 0, catatlah pada lembar data.
- 3) Catat berapa banyak lalat yang mati atau hidup, dihitung setiap 30 menit sampai semuanya mati selama 2 jam. Bioassay tidak perlu dilanjutkan lebih dari 2 jam; lalat dianggap mati jika sudah tidak tahan lagi.

- 4) Lakukan pengulangan ke 2 setelah selesai pengamatan pada pengulangan 1.
- 5) Lakukan kegiatan yang sama dengan pengulangan



H. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian diolah dan dianalisis, data yang terdiri dari banyak variabel, dan diduga antar variabel tersebut saling berhubungan atau berpengaruh satu sama lain. Teknik analisis data menggunakan uji statistik Anova *two way*. Semua analisis tersebut di atas menggunakan program statistik program komputer.