

IV. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian.

Kegiatan penelitian di laksanakan dalam kondisi laboratorium di daerah Ngesrep, Semarang. Waktu pelaksanaan mulai bulan Agustus sampai Desember 1993.

B. Bahan dan Alat.

1. Bahan :

a. Telur *Aedes aegypti*.

Telur *Aedes aegypti* diperoleh dari Stasiun Penelitian Vektor Penyakit (SVPV) Puslit Ekologi Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Salatiga.

b. *Eichhornia crassipes* di peroleh dari perairan umum di Semarang.

c. Ekstrak hati sapi sebagai makanan larva nyamuk (diet makanan dari SPVP Salatiga).

d. Air sumur.

2. Alat :

a. Blender

b. Pipet tetes bermulut besar

c. Mangkuk plastik 250 ml

d. Pisau potong

e. Kain kasa

f. Gelas ukur

g. Termometer

h. Higrometer

i. Kertas pH

- j. Marmut
- k. Madu 100 %
- l. Kertas saring
- m. Timbangan 2,5 Kgr
- n. Sangkar nyamuk ukuran 1 x 1 x 1 M
- o. Nampan plastik ukuran 40 x 20 x 3 Cm.

C. Cara Kerja Penelitian.

1. Pembiakan massal *Aedes aegypti*.

Telur-telur yang didapat dari SPVP ditetaskan dalam nampan plastik ukuran 40 x 20 x 3 Cm yang berisi air sumur. Kira-kira sehari telur akan menetas menjadi larva instar I. Setelah dua hari akan berubah menjadi larva instar II dan dipelihara terus sampai menjadi instar IV. Setiap hari larva-larva ini diberi pakan ekstrak hati sapi. Setelah dua hari dari instar IV, larva akan berubah menjadi pupa dan dipindahkan kedalam mangkuk dengan menggunakan pipet, kemudian ditutup dengan kasa, pupa tidak diberi pakan. Mangkuk tersebut kemudian dimasukkan ke dalam sangkar berukuran 1 X 1 X 1 m³.

Setelah dua hari pupa akan berubah menjadi nyamuk. Di dalam sangkar disediakan mangkuk plastik berdiameter 14 cm berisi air sumur dan dibagian batas air diberi kertas saring sebagai tempat bertelurnya nyamuk betina. Nyamuk jantan diberi pakan madu 100 % yang diteteskan pada kapas dan nyamuk betina diberi pakan darah marmut. Setiap tiga hari sekali kertas

saring diganti dengan yang baru.

Kertas saring yang sudah penuh dengan telur di kering anginkan untuk kemudian di simpan. Telur-telur ini nantinya akan ditetaskan untuk memperoleh larva instar III yang akan di gunakan dalam pengujian.

2. Pembuatan ekstrak bahan uji.

a. Ekstrak tangkai daun *E. crassipes*

Pembuatan ekstrak tangkai berdasarkan metode Cox (1976), tangkai daun dipisahkan dengan daun dan dicuci bersih, satu kilogram tangkai daun dipotong kecil-kecil kemudian ditambah dengan aquadest sebanyak 500 ml dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Hasil gilingan yang berupa bubur ditimbang sebanyak satu kilogram dan disaring dengan kain penyaring untuk memisahkan cairan dengan filtrat. Cairan yang dihasilkan merupakan larutan sediaan yang dianggap 100 %. Untuk mendapatkan konsentrasi lainnya (5 %, 26,25 %, 47,5 %, 68,75 %, 90 %) dilakukan pengenceran dengan aquadest.

b. Ekstrak daun *E. crassipes*.

Pembuatan ekstrak daun berdasarkan metode Cox (1976). Satu kilogram bagian daun ditambah dengan 500 ml aquadest kemudian digiling dengan blender. Hasil gilingan yang berupa bubur kemudian ditimbang sebanyak satu kilogram dan disaring dengan menggunakan kain penyaring untuk memisahkan cairan ekstrak dengan filtrat. Cairan yang diperoleh merupakan larutan sediaan yang dianggap 100 %.

Untuk mendapatkan konsentrasi lainnya (5 % ; 26,25 % ; 47,5 % ; 68,75 % ; 90 %) dilakukan pengenceran cairan dengan aquadest.

3. Uji Pendahuluan

Sebelum dilakukan uji sesungguhnya di lakukan uji pendahuluan untuk mendapatkan nilai efektifitas dari ekstrak daun dan ekstrak tangkai daun *E. crassipes*, yaitu dengan menggunakan konsentrasi 5 % ; 26,25 % ; 47,5 % ; 68,75 % ; 90 % dan 0 % sebagai kontrol. Banyaknya larva yang dipakai dalam pengujian adalah 10 ekor larva setiap 200 ml konsentrasi larutan ekstrak. Pakan di berikan pada setiap perlakuan sebanyak 0,5 mg (Koestoni, 1985).

Pengamatan dilakukan setiap 4, 8, 12, 16, ... 48 jam setelah aplikasi ekstrak dilakukan, dengan cara menghitung jumlah kematian larva. Sebelum dan sesudah perlakuan di lakukan pengukuran pH larutan, suhu dan kelembaban udara.

Uji pendahuluan ini di lakukan untuk menunjukkan batas kritis, dengan menentukan konsentrasi ambang atas (Lc 100 - 24 jam), yaitu konsentrasi tertentu dimana larva mati paling banyak dalam waktu 24 jam dan konsentrasi ambang bawah (Lc 0 - 48 jam), yaitu konsentrasi tertentu dimana larva mati dengan jumlah paling sedikit atau tidak ada kematian dalam waktu 48 jam.

4. Uji sesungguhnya

Setelah dihasilkan data dari uji pendahuluan, kemudian dibuat larutan ekstrak uji sesungguhnya berdasarkan metode Busvine Nash (Koestoni, 1985). Sehingga konsentrasi larutan ekstrak untuk uji sesungguhnya adalah sebagai berikut :

Tabel 02 : Prosentase konsentrasi larutan ekstrak uji sesungguhnya

Ekstrak	Konsentrasi (%)					
	Tangkai	0	5	26,25	47,5	69,75
Daun	0	5	26,25	47,5	69,75	90

Setiap 200 ml konsentrasi setiap larutan ekstrak diperlakukan terhadap 10 ekor larva *A. aegypti* instar III. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam pemberian larutan ekstrak. Masing-masing perlakuan diulang lima kali. Di samping itu dilakukan pengamatan pH larutan ekstrak, suhu, kelembaban udara sebelum dan sesudah perlakuan. Untuk data tambahan dilakukan pengamatan jumlah pupa yang berkembang menjadi imago.

D. Analisis Data.

Rancangan percobaan dengan menggunakan metode RAL, sedangkan untuk penentuan Lc 50 pada 24 dan 48 jam dihitung dengan Analisis Probit, dimana hubungan antara nilai logaritma dari konsentrasi larutan ekstrak dengan nilai probit mortalitas larva *Aedes aegypti* merupakan fungsi linier, $Y = a + b X$.

Untuk penarikan kesimpulan, di gunakan uji F terhadap data yang diperoleh pada uji sesungguhnya. Untuk mengetahui perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji t.

