

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen. Pada penelitian ini dilakukan uji hayati dari ekstrak daun sembung terhadap larva ulat krop kubis (*Crocidolomia pavonana*) dengan memanipulasi konsentrasi ekstrak dengan adanya kontrol.

#### B. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Konsentrasi yang digunakan pada uji penentuan  $LC_{50}$  sebanyak 8 konsentrasi dan pengulangan yang dilakukan sebanyak tiga kali. Jumlah pengulangan yang diterapkan pada tiap konsentrasi didasarkan pada perhitungan menurut Warsa dan Cucu (1985) sebagai berikut:

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

Keterangan:

t = Perlakuan (*treatment*)

r = Pengulangan (*replication*)

15 = Faktor nilai derajat kebebasan

Berdasarkan rumus diatas,jika jumlah perlakuan (t) = 8, maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut :

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

$$(8-1)(r-1) \geq 15$$

$$7r-7 \geq 15$$

$$7r \geq 22$$

$$r \geq 3,14$$

Berdasarkan rumus diatas, dapat diketahui banyaknya pengulangan yang harus dilakukan dalam penelitian ini, apabila terdapat  $P = 8$ . Jadi jumlah pengulangan yang harus dilakukan sebanyak 3 kali.

Penentuan posisi cawan petri pengamatan dilakukan secara acak tanpa membedakan kontrol dan perlakuan seperti pada Tabel 3.1 berikut ini :

**Tabel 3.1 Rancangan Acak Lengkap**

A2	B1	C2	D1	E3	B3	A1	H2
G1	H1	F2	G3	C3	F1	H3	F3
C1	B2	E1	D3	E2	A3	G2	D2

Keterangan :

A = Kontrol air

B = Kontrol pengemulsi 0,1%

C = Konsentrasi ekstrak 0,6%

D = Konsentrasi ekstrak 1,5%

E = Konsentrasi ekstrak 20%

F = Konsentrasi ekstrak 40%

G = Konsentrasi ekstrak 60%

H = Konsentrasi ekstrak 80%

1, 2, 3 = Pengulangan

## C. Populasi dan Sampel

### 1. Populasi

Populasi yang diamati pada penelitian ini adalah larva ulat kropkubis (*Crocidolomia pavonana*) yang dikembangbiakan.

### 2. Sampel

Sampel yang diamati adalah larva instar III yaitu larva yang diperoleh kira-kira 11-12 hari setelah telur sampai stadium larva instar III. Jumlah larva Ulat kropkubis (*Crocidolomia pavonana*) yang digunakan sebanyak 10 ekor untuk masing-masing perlakuan. Jika pengujian yang dilakukan terdiri dari delapan perlakuan dengan jumlah pengulangan tiga kali, maka jumlah larva yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 240 ekor.

## D. Waktu dan Lokasi

Penelitian dilakukan dari Januari sampai Mei 2012 di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

## E. Alat dan Bahan

### 1. Alat – alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini tercantum dalam daftar alat-alat penelitian yang dapat dilihat di bagian lampiran 3.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva Ulat krop kubis (*Crocidolomia pavonana*) instar III, ekstraksembukan (*Paederia scandens*.L), methanol, aquades dan madu (untuk makanan imago).

## F. Langkah Kerja Penelitian

### 1. Tahap Persiapan

#### a. Pembuatan Ekstrak Daun Sembukan

Metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah metode Harborne yaitu bahan diekstrak dengan *rotatory evaporimeter* (gambar 3.1 bagian a). Daun sembukan yang basah dikeringkan di angin-anginkan terlebih dahulu selama kurang lebih 3 hari. Pada saat pengeringan daun sembukan tidak boleh langsung terkena matahari karena dapat menurunkan konsentrasi zat aktif di dalamnya.

Daun sembukan yang sudah kering dihancurkan dengan menggunakan blender (gambar 3.1 bagian b) kemudian disaring dengan menggunakan saringan berukuran pori 0,5 mm sehingga diperoleh serbuk. Kemudian sebanyak 10 gram serbuk daun sembukan dilarutkan dengan pelarut *methanol* 100ml, larutan diaduk merata lalu di maserasi untuk beberapa hari agar serbuk daun sembukan mengeluarkan zat-zat aktif. Larutan tersebut lalu disaring dengan kain kasa halus. Untuk menghilangkan zat pelarut dilakukan evaporasi. Dilakukan penguapan di dalam *waterbath* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kering

metanol sebagai ekstrak uji hayati. Ekstrak yang dihasilkan diambil untuk dibuat konsentrasinya, masing-masing konsentrasi ekstrak siap digunakan untuk pengujian (Priyono, 1994).



(a) (b)

**Gambar 3.1 (a) Rotatory evaporimeter (b) Blender**  
(Sumber : Dokumen Pribadi)

**b. Pemeliharaan Ulat Krop Kubis (*Crocidolomia pavonana*)**

Ulat krop kubis *Crocidolomia pavonana* didapatkan dari kubis yang terdapat di BALITSA Badung. Larva ini dipelihara hingga menjadi imago dan dikembangbiakan dalam sebuah kotak kelambu berukuran 40 x 25 x 25 cm<sup>3</sup> (gambar 3.2) yang didalamnya telah disediakan kubis yang diletakkan di dalam wadah berisi air untuk menjaga agar daun tetap segar. Daun tersebut berfungsi sebagai tempat pengat dewasa menyimpan telur di bagian bawah daun. Pemberian pakan pengat dewasa berupa madu dengan konsentrasi 10% yang dibasahi pada kapas dan digantungkan di dalam kotak. Setelah terlihat kelompok-kelompok telur pada permukaan daun, daun-daun tersebut dipindahkan ke kotak plastik terpisah yang berukuran 20 x 15

x 15 cm<sup>3</sup> da diberi alas kertastisu. Setelahtelurmenetas, makanan larva selaludiperiksadandigantisetiaphariataupadasaattisupadatempatpemeliharaaantelahlembab.Setiap instar diletakkanpadatempat yang berbeda. Larva stadium pre pupa akanmenghentikanaktivitasmakandanbersiap-siapuntukmembentuk pupa. Pupa berwarna coklatkekuning-kuningandanpadatahapakhirberwarnacoklattua.Pupa yang telahterbentukdipindahkankedalamkotak yang disiapkanuntuk imago ataungingatdewasa(Miranti, 2008).



**Gambar 3. 2**Sangkaruntuk imago ataungingat *Crocidolomia pavonana*(Sumber :DokumenPribadi)

## 2. LangkahKerjaPraPenelitian

Langkahkerjapertamadalamprapenelitianiniyaitumempersiapkancawan petri 24 buah.Selanjutnyamenentuankonsentrasiekstrakdaunsembukanuntukperlakuan, yaitu : 0%, 0,1% pengemulsi, 0,6%,1,5% 20%, 40%, 60%, 80%.

Sepuluhekorulatropkubispadatahaplarva instar III dimasukkankedalamsetiapcawan petri. Daunkol (makananulatrop) dicelupkankedalamekstrakdaun*Paederiascendens*dengankonsentrasi yang

sudah ditentukan. Kemudian dilakukan pengamatan angka mortalitas larva instar III selama tiga hari.

## G. Uji Toksisitas $LC_{50}$

### 1. Uji Penentuan Kisaran Toleransi

Konsentrasi dalam uji penentuan ini digunakan delapan konsentrasi. Dua konsentrasi sebagai kontrol (0%) dan enam konsentrasi sebagai perlakuan. Delapan konsentrasi yang digunakan adalah: 0%, 0,1% pengemulsi, 0,6% ekstrak, 1,5% ekstrak, 20% ekstrak, 40% ekstrak, 60% ekstrak, dan 80% ekstrak.

### 2. Uji Penentuan (*Definitive test*)

Uji ini dilakukan dengan mengacu pada hasil konsentrasi yang dilakukan pada pengujian pendahuluan akan tetapi kisaran konsentrasi lebih diperhalus, untuk idealnya konsentrasi yang didapat dalam *definitive test* ini adalah 50% dari jumlah *range finding test* (Christiana, 2006).

Pada penelitian ini hanya dilakukan tahap *range finding test* dengan tiga kali tahapan penelitian. Hal itu dikarenakan konsentrasi yang diujikan sudah pada kisaran yang halus. Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan melakukan pengujian ekstrak daun embukan terhadap kematian larva instar III ulat krop kubis

(*Crocidolomia pavonana*). Tahapan yang dipersiapkan adalah cawan petri untuk 8 konsentrasi dengan tiga kali pengulangan. Larva dimasukkan ke dalam cawan petri. Kemudian larva instar III diberimakan yang sudah dicelupkan ke dalam ekstrak kemudian kematian larva diamati selama 3 x 24 jam.

#### **H. Mortalitas Larva**

Setiap cawan petri yang diberi perlakuan, diamati kematian larva Ulat krop kubis (*Crocidolomia pavonana*) dalam 3 x 24 jam. Larva yang tidak melakukan pergerakan dan aktivitas lagi diamati dan dilihat kematiannya kemudian dihitung jumlah kematiannya, dan hitung setiap kematian dan lakukan analisis data.

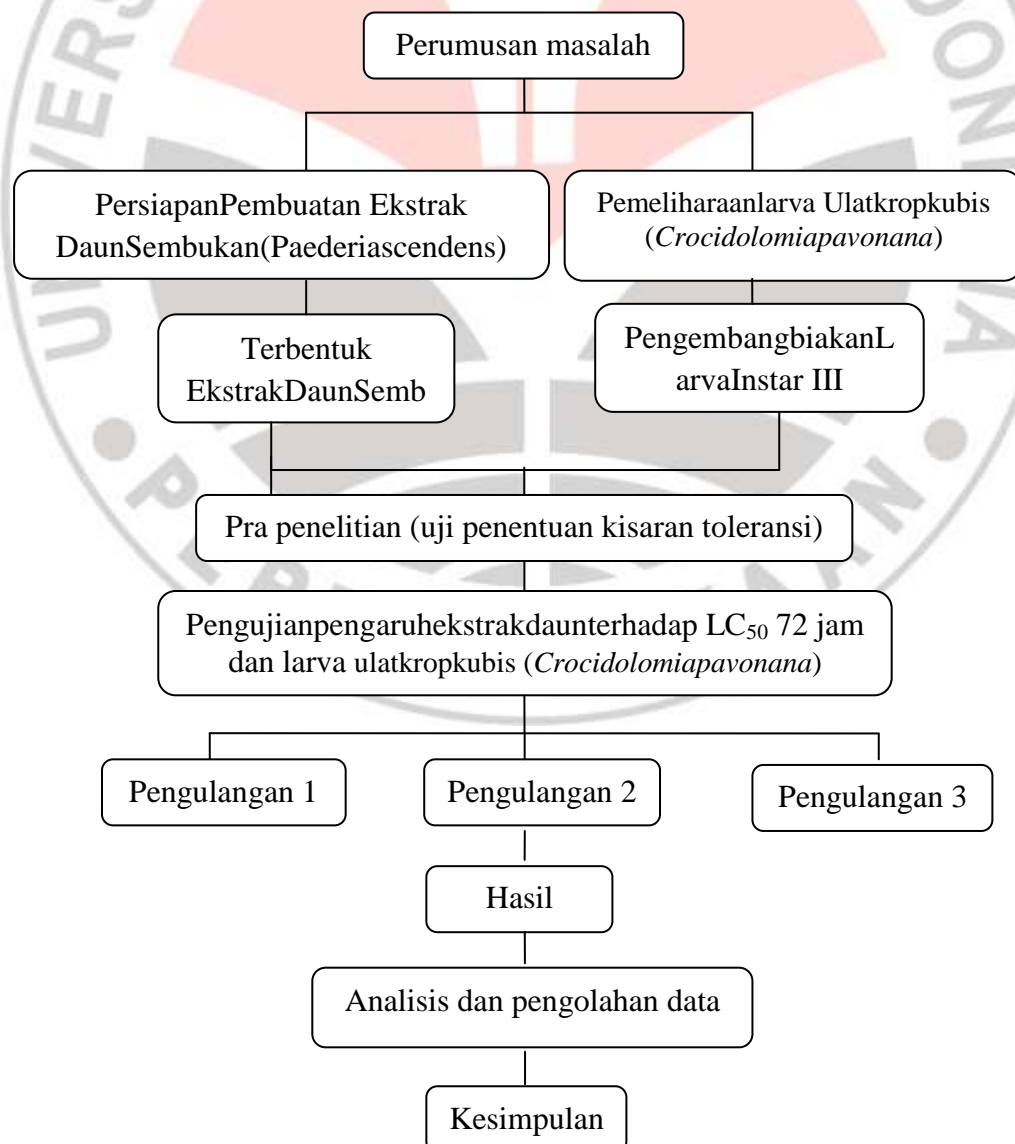
#### **I. Analisis Data**

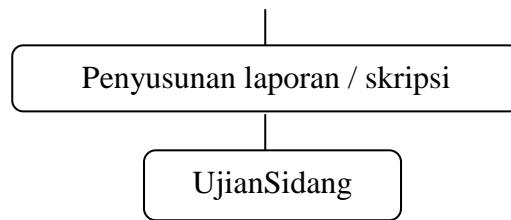
Hasil percobaan ditentukan dari jumlah larva yang mati setelah perlakuan dalam waktu 72 jam. Larva yang mati ditentukan dari jumlah larva yang tidak menunjukkan aktifitas gerakan. Apabila persentase kematian pada kontrol lebih besar daripada 20% maka pengujian dianggap gagal yang berarti uji coba harus diulang.

Dari data larva yang mati untuk tiap konsentrasi dapat ditentukan nilai  $LC_{50}$  dengan analisis probit pada *software* SPSS 16.0



## J. Alur Penelitian





**Gambar 3.3 Alur Penelitian**

