

BAB III
METODELOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain penelitian quasi eksperimental design dan menggunakan Uji Analisis One Way ANOVA. Efektivitas dan nilai LC50.

B. Tempat dan waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda dan Laboratorium Sekolah Tinggi Kesehatan Samarinda dan rumah yang beralamat jalan KH. Harun Nafsi, Samarinda. Adapun waktu penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Waktu Penelitian

No.	Uraian Kegiatan	Bulan					
		Des	Jan	Feb	Maret	April	Mei
1	Observasi Lapangan						
2	Proposal						
3	Konsultasi						
4	Ujian Proposal						
5	Perbaikan Proposal						
6	Penelitian						
7	Konsultasi						
8	Penyusunan KTI						
9	Ujian KTI						

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah larva instar III

2. Sampel penelitian

a. Kriteria inklusi

- 1) Larva sehat instar yang telah mencapai pada instar III
- 2) Larva bergerak aktif

b. Kriteria eksklusi

- 1) Larva yang telah berubah menjadi pupa ataupun menjadi nyamuk dewasa. Larva yang mati sebelum perlakuan.

- 2) Besar sampel

Besar sampel 450 ekor larva nyamuk instar III. Di letakkan pada 6 wadah container yang masing-masing berisi 25 ekor larva.

D. Variabel penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3.2 Variabel Penelitian

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat dan Bahan	Kriteria
1	Ekstrak etanol batang Tendani (<i>Goniothalamus macrophyllus</i>)	Sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi dari batang Tendani (<i>Goniothalamus macrophyllus</i>) dengan etanol	Batang Tendani (<i>Goniothalamus macrophyllus</i>) Rotary evaporator Etanol	Pemisahan antara pelarut dan simplisia.
2	Efektifitas ekstrak etanol batang Tendani (<i>Goniothalamus macrophyllus</i>)	Ekstrak etanol dari batang Tendani (<i>Goniothalamus macrophyllus</i>) dibuat dengan 1 %, 5%, 10% dan 15%. Menentukan konsentrasi yang terendah yang mampu mematikan 50-100% Larva yang diamati selama 24 jam.	25 ekor larva nyamuk instar II-III	Jumlah larva yang mati selama perlakuan. Jika hasil pengujian larva menunjukkan nilai $\geq 50\%$ maka terbukti efektif.

E. Kriteria Objektif

Ekstrak etanol batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) dinyatakan efektif membunuh larva nyamuk 50% dengan menunggu konsentrasi 1 %, 5%, 10% dan 15%. Jika hasil pengujian larva menunjukkan nilai $< 50\%$ maka terbukti tidak efektif, jika hasil pengujian larva menunjukkan nilai $\geq 50\%$ maka terbukti efektif.

F. Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, oven, shaker, rotary evaporator, botol vial, kertas kado, pipet tetes, beaker glass, gelas plastik, gelas ukur, stopwatch, dan mikropipet. Sedangkan bahan yang digunakan adalah batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*), etanol, larutan dragengof, larutan HCL pekat dan HCL 1%, larutan Libermann-

Burchard, larutan NaOH 1%, larutan *Molisch* larutan asam asetat pekat, jentik nyamuk, dan air.

G. Prosedur penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu tahap pertama ekstraksi, tahap kedua uji fitokimia, dan disini penelitian akan dilanjutkan pada tahap uji aktivitas larvasida ekstrak batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) dengan menggunakan persen konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%.

1. Ekstraksi

Isolasi senyawa batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 300gr batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) dimaserasi dengan etanol selama 2 x 24 jam dan diaduk kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator, sampel yang telah dipekatkan akan dimasukkan ke dalam botol vial untuk dioven kembali pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ hingga ekstrak sangat pekat dan kering dari pelarutnya (Harborne, 1987).

2. Pengujian fitokimia

Isolasi senyawa aktif merupakan hasil maserasi batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) dan selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dengan metode reaksi warna. Uji warna:

a) Identifikasi Alkaloid

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan pereaksi *dragendorff* dengan tahapan analisis sebagai berikut (Kokate et al, 2001). Sebanyak 5 ml ekstrak yang telah dilarutkan dengan aseton dan ditambahkan 2 ml

HCl pekat, kemudian dimasukkan 1 ml larutan *dragendorff*. Perubahan warna larutan akan menjadi jingga atau merah yang menandakan bahwa ekstrak mengandung alkaloid.

b) Identifikasi Triterpenoid dan steroid

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat yang disebut dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Pada pengujian ini menggunakan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 2 tetes asam sulfat pekat yang ditambahkan secara berurutan ke dalam 1 ml fraksi aktif (sampel uji). Selanjutnya sampel uji dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Reaksi yang akan terjadi diikuti dengan perubahan warna, jika terlihat warna merah dan ungu maka uji positif triterpenoid dan jika terlihat warna hijau dan biru maka uji positif steroid (Harborne, 1987).

c) Identifikasi Saponin

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan 10 ml air panas ke dalam 1 ml fraksi aktif (sampel uji), kemudian larutan didinginkan dan dikocok selama 10 detik. Terbentuknya buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dengan ketinggian 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang ketika ditambahkan 1 tetes HCl 2N menandakan bahwa ekstrak yang diuji mengandung saponin (Harborne, 1987).

d) Identifikasi Flavonoid

Identifikasi dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes NaOH 1% ke dalam 1 ml fraksi aktif (sampel uji). Munculnya warna kuning

jernih pada larutan ekstrak dan menjadi tidak berwarna setelah penambahan asam encer (HCl 1%) menunjukkan adanya flavonoid (Kokate et al, 2001).

e) Identifikasi Tanin

Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 ml larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi dan menambahkan larutan timbal asetat ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ 1%. Tanin akan positif jika terjadi reaksi endapan kuning (Kokate, 2001).

3. Pengujian Ekstrak Batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*) terhadap Aktivitas larva

larva nyamuk yang digunakan sebagai bahan uji dikumpulkan dan dicari tempat perkembangbiakan jentik seperti tempat penampungan air, seperti air jernih atau sedikit terkontaminasi, selokan atau got, air payau atau air tawar, dan persawahan, kemudian dikumpulkan dan diidentifikasi, hanya instar yang sudah mencapai instar III yang digunakan. Pada tahap instar III dan siap untuk digunakan dalam pengujian. Enam wadah plastik akan disiapkan untuk pengujian, dimana lima wadah plastik digunakan untuk sampel dan satu wadah sebagai kontrol positif dengan menggunakan abate, dan satu wadah sebagai kontrol negatif. Sampel akan dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi, yaitu 1%, 5%, 10% dan 15%. Ekstrak batang tendani dari masing-masing fraksi akan dimasukkan ke dalam wadah plastik yang berbeda, kemudian akan diuji dengan 25 ekor larva nyamuk. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali pengujian larva.

Untuk kontrol, 1 ml etanol akan dimasukkan ke dalam wadah plastik lalu ditambahkan air hingga volume 100 ml, kemudian 25 ekor larva uji akan dimasukkan ke dalam larutan tersebut. Hal ini akan dilakukan dalam 3 kali pengulangan. Pengamatan akan dilakukan pada 6 jam pertama, interval 1 jam dan 24 jam. Setelah data diperoleh, maka akan dilakukan analisis untuk mengetahui konsentrasi kematian.

H. Metode Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Data primer

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dan perhitungan pada jumlah kematian larva selama percobaan.

2. Data sekunder

Data yang diperoleh dari literatur atau kepustakaan yang ada hubungannya dengan penulisan Karya Tulis Ilmiah.

I. Pengolahan dan Analisis Data

Hasil pengamatan yang telah dilakukan kemudian akan dianalisis dengan menggunakan metode ANOVA (one way) untuk menilai efektivitas ekstrak batang Tendani (*Goniothalamus macrophyllus*).

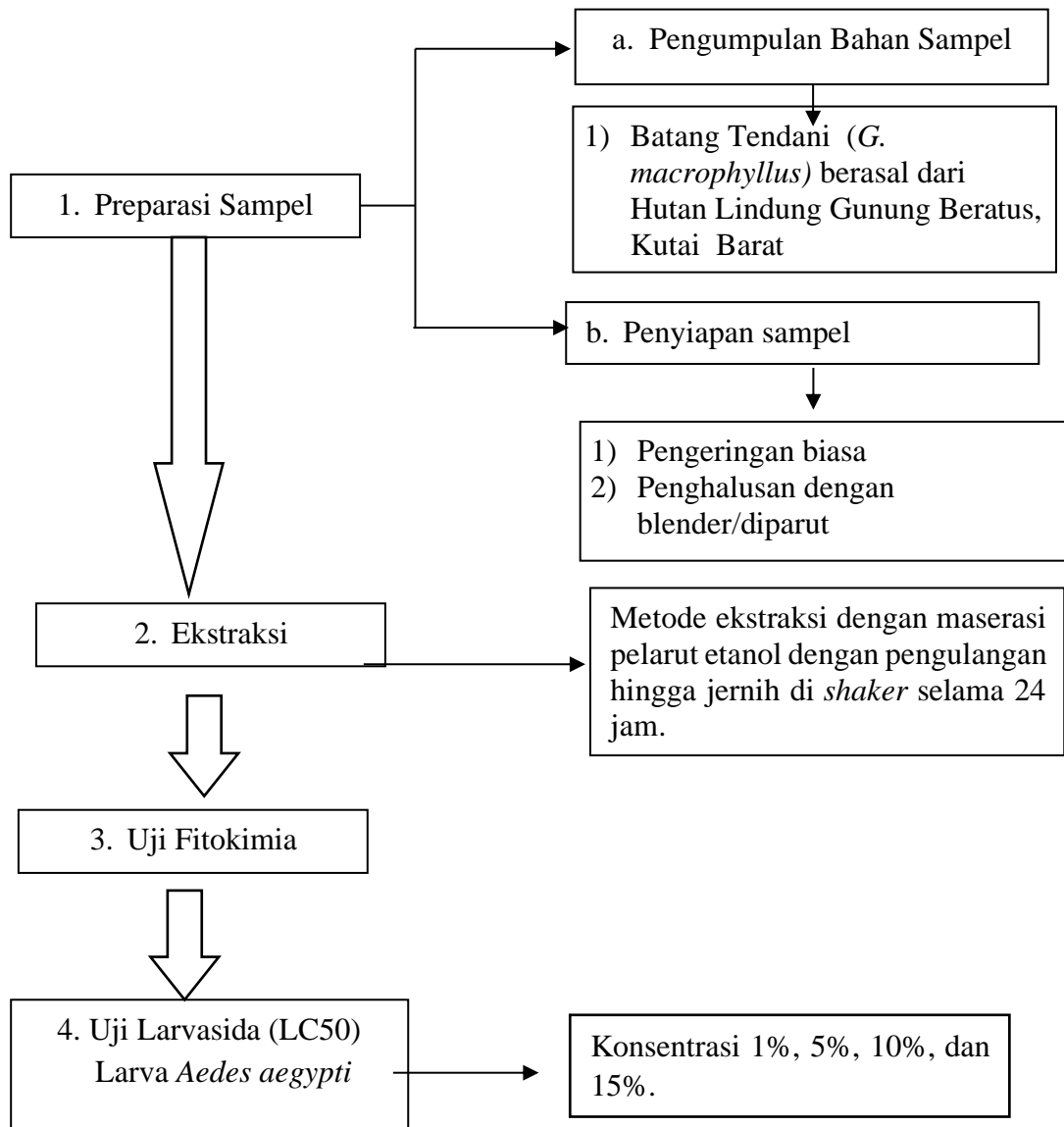
1. One Way ANOVA

Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan yang telah diberikan, akan dilakukan analisis *One-way* ANOVA, namun jika distribusi data tidak normal atau varians data tidak sama, maka dapat dilakukan uji alternatif yaitu *Kruskal-Wallis*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan yang

paling kecil di antara dua kelompok perlakuan. Apabila uji tersebut mendapatkan hasil yang signifikan (bermakna) yaitu $p < 0,05$, maka dilakukan analisis post-hoc untuk *one-way* ANOVA yaitu Bonferroni sedangkan uji *Kruskal-Wallis* yaitu *Mann-Whitney*.

J. Alur Penelitian

Mengacu pada desain penelitian, agar penelitian ini lebih mudah, terarah serta efektif maka disusunlah langkah-langkah atau alur penelitian sebagai berikut:



Gambar 3. 1 Alur Penelitian