

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian ini adalah *the posttest only controlled group design*. Rancangan penelitian ini dipilih karena tidak dilakukan pretest terhadap sampel sebelum perlakuan yang telah dilakukan randomisasi baik pada kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol. Larva *Aedes aegypti* nantinya akan mendapat perlakuan langsung dengan dimasukan ke dalam larutan ekstrak biji kedawung dengan berbagai konsentrasi.

B. Lokasi Penelitian

1. Determinasi biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) di lakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang.
2. Pembuatan ekstrak biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) dan skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang.
3. Uji Larvasida di Laboratorium Klinik Institut Teknologi Sains dan Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.

C. Bahan

Biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) didapatkan dari Daerah Tuban, Jawa Timur

D. Definisi Operasional

Variabel	Definisi
Ekstrak biji kedawung	Ekstrak biji kedawung yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dibuat berbagai konsentrasi yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5%.
Mortalitas Larva <i>Aedes Aegypti</i> nilai LC ₅₀	Kematian 50% Larva <i>Aedes Aegypti</i> setelah 24 jam larva tidak bergerak, tenggelam atau tidak merespon rangsangan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Independen

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) dengan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5%.

2. Variabel Dependen

Variabel dependen atau variabel terikat pada penelitian ini adalah mortalitas larva *Aedes aegypti*.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pH, temperatur, kepadatan larva, volume air.

F. Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Tabung reaksi, neraca timbang, (*rotatory evaporator*) merek DLab RE100-S, *corong buchner*, kertas saring, batang pengaduk kaca, spatula silicon, pipet, gelas ukur 1000 cc, 30 gelas plastik (sebagai gelas perlakuan), gelas beker, kertas label, botol 1,5 L, nampan plastik untuk medium pertumbuhan larva dan saringan teh.

b. Bahan

Biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.), etanol 96%, aquades, larva *Aedes aegypti* instar III/IV dan makanan ikan (fish food) untuk makanan larva.

2. Deteminasi Tumbuhan

Determinasi dilakukan di Laboratorium Bahan Alam di di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang agar dapat mengetahui kebenaran serta keaslian dari biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) sebagai tujuan menghindari adanya kesalahan pengumpulan bahan utama penelitian.

G. Prosedur Kerja

1. Pembuatan Ekstrak Biji Kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.)

Pembuatan ekstrak biji kedawung dilakukan melalui beberapa tahap. Pertama, biji kedawung yang telah dideterminasi dikeringkan selama 7 hari di atas sinar matahari. Setelah kering, biji-biji tersebut dikupas dan dibuang

kulitnya dan digiling menggunakan grinder. Biji kedawung yang telah halus kemudian disaring dan direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:3 (b/v). Proses perendaman dilakukan sambil diaduk dengan spatula silikon selama 2-3 jam, kemudian larutan dibiarkan selama 72 jam. Setelah itu, campuran disaring menggunakan corong Buchner yang dilapisi kertas saring. Hasil penyaringan kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 60 derajat untuk menguapkan etanol, sehingga dihasilkan ekstrak biji kedawung.

2. Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan metode Dragendorff, Reagen Mayer, dan Reagen Boucharat yang dilakukan dengan cara menambahkan reagen ke dalam ekstrak biji kedawung. Adanya endapan oranye atau merah bata menunjukkan adanya alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan metode uji Shinoda. dengan cara dan menambahkan alkohol, serta 2-3 tetes asam klorida ke ekstrak biji kedawung. Adanya perubahan warna merah, merah muda, atau oranye menunjukkan adanya flavonoid.

c. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode uji buih dengan cara menambahkan 5 ml air suling ke ekstrak biji kedawung, kemudian

dikocok selama 15 detik, lalu didiamkan selama 15 menit. Adanya perubahan warna dan endapan menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Tanin

Uji tannin dilakukan dengan uji Ferri Klorida. Metode ini dilakukan dengan menambahkan ekstrak biji kedawung ke 1% larutan yang FeCl_3 . Adanya perubahan warna coklat tua menunjukkan adanya tanin.

3. Uji Larvasida Ekstrak

a. Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok 10% disiapkan dengan melarutkan ekstrak biji Kedawung dalam 100 mL air suling. Dalam membuat larutan stok dengan konsentrasi sebesar 10% yang diencerkan menjadi 0,1% hingga 0,5% sebanyak 100 ml.

b. Kontrol Positif

Kontrol Positif adalah kelompok percobaan yang diperlakukan dengan zat yang diketahui akan memberikan respons positif sesuai yang diharapkan dalam uji. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan Abate dengan konsentrasi 0,1%.

c. Kontrol Negatif

Kontrol Negatif adalah kelompok percobaan yang tidak diperlakukan dengan zat yang diuji dan digunakan sebagai pembanding untuk menilai hasil uji pada kelompok percobaan yang lain. Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan 500 ml larutan Aquades.

4. Pembagian Kelompok Uji

Larutan yang telah disiapkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak Biji Kedawung dipindahkan di dalam gelas plastik yang sudah dipersiapkan kedalam 7 kelompok:

- a. Kelompok kontrol negatif: tidak diberikan ekstrak biji kedawung
- b. Kelompok 1: ekstrak biji kedawung dengan konsentrasi (0,1%)
- c. Kelompok 2: ekstrak biji kedawung dengan konsentrasi (0,2%)
- d. Kelompok 3: ekstrak biji kedawung dengan konsentrasi (0,3%)
- e. Kelompok 4: ekstrak biji kedawung dengan konsentrasi (0,4%)
- f. Kelompok 5: ekstrak biji kedawung dengan konsentrasi (0,5%)
- g. Kontrol positif: menggunakan Abate dengan konsentrasi 0,1%

5. Penetasan Telur

Telur *Aedes aegypti* direndam di nampan plastik yang sudah diberikan aquades untuk tempat penetasan telur. Kemudian diletakkan di ruangan khusus perkembangbiakan larva yang sudah diatur suhunya dengan *Air conditioner portable*.

6. Pemindahan Larva pada Gelas Perlakuan

Telur yang telah menetas menjadi larva instar III dan IV kemudian dipindahkan ke gelas yang berisi aquades, pindahkan 15 larva dengan menggunakan pipet. Kemudian larva yang sudah dipindahkan ke gelas dan sudah diukur sejumlah 15 larva lalu dipindahkan ke gelas perlakuan yang sudah berisi ekstrak biji kedawung dengan masing-masing konsentrasi. Kemudian dilakukan cek probit Larva *Aedes Aegypti*. Larva *Aedes Aegypti*

didiamkan selama 24 jam. Kemudian larva yang sudah tidak bergerak, tenggelam atau tidak merespon rangsangan dihitung, dan dicatat untuk dianalisa. Hal tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali

7. Manajemen Data

a. Data yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yakni diambil dari jumlah larva yang mati setiap 24 jam pada setiap konsentrasi ekstrak biji kedawung (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) yang dilakukan sebanyak 3 kali. Data yang dikumpulkan dicatat dalam bentuk tabel.

b. Cara Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah dengan cara menghitung jumlah larva yang mati selama 24 jam pada masing-masing gelas perlakuan. Larva yang mati merupakan larva yang tenggelam ke dasar kontainer, tidak bergerak, meninggalkan larva lain yang dapat bergerak dan tidak berespon terhadap rangsangan.

H. Analisis Data

Setelah semua data yang didapatkan dari jumlah larva *Aedes aegypti* instar III/IV yang mati, selanjutnya dilakukan pengolahan dan analisis data menggunakan *software* SPSS 16.0. Terdapat beberapa uji statistik yang dilakukan, yaitu:

1. Uji *Shapiro Wilk Test*

Sampel diuji normalitas datanya menggunakan uji *Shapiro Wilk Test* untuk mengetahui apakah sampel berdistribusi normal atau tidak.

Apabila nilai p-value (nilai signifikansi) yang dihasilkan $> \alpha$ (0,05) yang berarti data berdistribusi normal. Sebaliknya, bila nilai p-value $< \alpha$ (0,05), maka data yang diuji tidak berdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui kesamaan varian sampel dalam penelitian. Uji homogenitas menggunakan uji Levene Test atau uji Fisher F. Apabila hasil nilai $p > 0,05$ maka data kelompok memiliki kesamaan varian.

3. Uji Analisis Varian (*One Way ANOVA*)

Uji analisis varian (*One Way ANOVA*) digunakan untuk menemukan perbedaan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* antar kelompok uji. Apabila nilai p-value (nilai signifikansi) yang dihasilkan $< \alpha$ (0,05) yang berarti data berdistribusi normal. Sebaliknya, bila nilai p-Value $< \alpha$ (0,05), maka data yang diuji tidak berdistribusi normal. Apabila data tidak homogen dan tidak berdistribusi normal maka akan dilakukan uji *Kruskal Wallis*. Apabila pada uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil yang signifikan yaitu p value $< 0,05$ maka dilakukan analisis *Mann Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang signifikan