

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sains dan Teknologi dan juga dilakukan di Laboratorium Balai Lingkungan Hidup. Penelitian ini menggunakan 4 macam konsentrasi perlakuan, ekstrak kental diencerkan menggunakan air. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah beaker gelas, botol semprot, blender, corong pisah, gelas ukur, gunting, kertas saring, kain kasa, kotak atau kandang nyamuk, timbangan analitik wadah tempat telur nyamuk. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun salam yang diambil di daerah Palembang (di sekitar perkarangan rumah), nyamuk *Aedes aegypti*, aquades, etanol 70%, kloroform, HCl, Mg, asam sulfat dan  $\text{FeCl}_3$ , larutan gula, marmut, dan pelet ikan.

#### **3.3 Prosedur Penelitian**

##### **3.3.1 Preparasi Sampel**

Daun salam dicuci dan dibersihkan dengan air, kemudian dikeringkan selama 24 jam dengan pemaparan matahari. Daun salam kering tersebut dihaluskan.

##### **3.3.2 Ekstraksi Daun Salam**

Serbuk daun salam ditimbang sebanyak 500 gram kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 1500 mL, kemudian ditutup dan direndam dengan kondisi terlindungi dari cahaya lalu didiamkan

selama 24 jam. Proses tersebut diulangi sebanyak dua kali dengan pelarut yang sama dan volume pelarut setengah dari volume pelarut pertama. Semua maserat kemudian dikumpulkan, lalu dipisahkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 70°C.

### **3.3.3 Skrining Fitokimia**

#### **a. Uji Terpenoid**

Ekstrak daun salam sebanyak 2 mL ditambahkan 1 mL kloroform, kemudian ditambahkan asam sulfat lalu dikocok. Warna kuning menunjukkan adanya terpenoid.

#### **b. Uji Flavonoid**

Ekstrak daun salam sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan ditambahkan larutan HCl. Perubahan warna menjadi orange, merah, atau kuning menunjukkan adanya flavonoid.

#### **c. Uji Tanin**

Ekstrak daun salam sebanyak 2 mL ditambahkan 5 mL air tambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$ . Warnabiru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

#### **d. Uji Saponin**

Ekstrak daun salam sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 ml air panas dan didinginkan, dikocok, dibiarkan selama 10 menit. Terbentuknya buih stabil menunjukkan adanya saponin.

### **3.3.4 Persiapan Nyamuk**

Persiapan nyamuk dimulai dengan perkembangbiakkan dari larva nyamuk. Larva nyamuk dimasukkan kedalam wadah yang berisi

air dan dimasukkan ke dalam kandang nyamuk yang berukuran 45x30x30 cm. Pada saat larva telah menjadi nyamuk dewasa, nyamuk tersebut diberi persediaan makanan bagi nyamuk jantan dewasa diberikan larutan gula 10% (10 gram gula dan 100 ml air) yang dimasukkan ke dalam botol kecil dan diberi kapas, sedangkan betina berupa darah segar. Tujuan pemberian makanan tersebut agar nyamuk tidak mati dan bertahan lama untuk hidup. Nyamuk dipindahkan menggunakan pinset dan aspirator, kemudian dimasukkan ke dalam kandang perlakuan masing-masing 20 nyamuk sebagai sampel penelitian.

### **3.3.5 Cara Pembuatan Kandang Perlakuan**

Siapkan kandang perlakuan yang dibuat dari kayu yang berukuran 45x30x30 cm. Setiap sisi kandang ditutup dengan kain tipis atau kasa, kemudian membentuk kotak persegi dibuat lubang tempat masukkan nyamuk. Contoh kandang perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 3.1** Kandang Perlakuan

### **3.3.6 Penetapan Kadar Dosis Semprotan**

Ekstrak daun salam yang telah diencerkan akan dibagi menjadi berbagai konsentrasi 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, dan 0,8% dimasukkan ke

dalam botol spray. Botol spray yang telah berisi larutan ditimbang beratnya beserta botol spray, misal A. Masing-masing konsentrasi disemprotkan sebanyak 10 kali. Insektisida beserta botol spray ditimbang kembali beratnya setelah disemprotkan, misal B diulang tiga kali. Selisih berat setiap ulangan dirata-rata. Dihitung jumlah semprotan insektisida cair yang diperlukan untuk pengujian.

Rumus untuk mencari kadar dosis semprotan.

$$\frac{(B.I.A - B.P1) + (B.P1 - B.P2) + (B.P2 - B.P3)}{3 \text{ Ulangan} \times 10 \text{ semprotan}}$$

Keterangan:

B.I.A = Berat insektisida awal

B.P1 = Berat insektisida penyemprotan 1

B.P2 = Berat insektisida penyemprotan 2

B.P3 = Berat insektisida penyemprotan 3

### 3.3.7 Uji Efektivitas Insektisida

Ekstrak kental daun salam dilarutkan dalam pelarut air dan diencerkan dengan menggunakan konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, dan 0,8%. Ekstrak daun salam kemudian dimasukkan ke masing-masing botol semprot. Kontrol negatif menggunakan air atau dengan konsentrasi 0% (tanpa ekstrak daun salam). Kematian nyamuk yang berada didalam kandang setelah disemprot dapat dilihat pada waktu yang berbeda dimulai pada 30 menit, 60 menit, dan 90 menit dalam 24 jam. Setelah itu, nyamuk yang mati dicatat dan diamati dan dihitung angka kematian nyamuk.

### 3.3.8 Analisa Data

Presentase kematian dihitung dengan: [5].

$$\text{Kematian (\%)} = \frac{\text{jumlah nyamuk mati}}{\text{jumlah nyamuk uji}} \times 100\%$$

Jika nyamuk pada kontrol (0%) mati melebihi 20%, maka hasil uji ditolak atau dapat dikatakan tidak efektif. Maka hasil dikoreksi menggunakan rumus Abbotts: [33].

$$\text{Kematian (\%)} = \frac{X - Y}{100 - Y} \times 100$$

Dimana :

X = persentase kematian nyamuk uji

Y = Persentase kematian nyamuk kontrol

Nilai presentase kematian ditransformasikan ke dalam nilai probit. Data dianalisis secara statistik dengan melalui bantuan program SPSS 25 for windows untuk mengetahui  $LC_{50}$  ekstrak daun salam sebagai insektisida *Aedes aegypti* dalam 24 jam. Menurut WHO [33], bahwa referensi dosis insektisida yang umum digunakan untuk aplikasinya adalah 0,2 gram.

