

## **BAB III**

### **METODELOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Peralatan yang digunakan pada proses ekstraksi senyawa dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) adalah blender, neraca analitik (*Ohaus*), wadah kaca maserasi, batang pengaduk, spatula, corong kaca (*Pyrex*) 75 mm, gelas kimia (*Pyrex*) 50 dan 250 ml, labu ukur (*Iwaki*) 50 ml, gelas ukur 10 dan 25 ml, tabung reaksi (*Iwaki*), rak tabung reaksi, pipet tetes, botol semprot, botol 1000 ml, *vacuum rotary evaporator* (*Buchi*), dan oven (*Memmert UN55*) serta bambu ukuran 60 cm diameter 1,5 cm, tali pancing, wadah *thinwall* 325 ml

##### **3.1.2 Bahan**

Sampel tumbuhan yang digunakan adalah daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) yang diperoleh dari kota Palembang. Media uji yang digunakan adalah kayu durian (*Durio* spp) dan rayap tanah (*Coptotermes curvignathus* Holmgren), etanol 96%, pasir, aquades, kertas saring, aluminium foil, plastic wrap, reagen *Mayer*, reagen *Dragendorff*, reagen *Wagner*, reagen

*Lieberman Burchard*, bubuk Mg, larutan HCl, larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , asam asetat dan akuades.

### **3.2 Prosedur Penelitian**

#### **3.2.1 Preparasi Sampel**

Daun sungkai diambil di daerah Palembang. Daun sungkai ditimbang untuk menghitung massa awal. Daun sungkai kemudian dikeringkan setelah dibersihkan. Setelah dikeringkan daun sungkai kemudian ditimbang kembali untuk menghitung persen kadar air pada daun yang telah hilang. Daun sungkai kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk.

#### **3.2.2 Ekstraksi Sampel (Pelarut Etanol)**

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Sebanyak 120 g serbuk daun sungkai dalam 1 liter etanol 96% diekstraksi selama 1x24 jam, disimpan pada tempat yang terlindung matahari sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dengan kertas saring hingga diperoleh filtrat. Diulangi perlakuan sebanyak 6 kali. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu  $40^\circ\text{C}$  dan diuapkan lagi menggunakan oven pada suhu  $40^\circ\text{C}$  hingga diperoleh rendemen ekstrak maserasi daun sungkai.

### 3.2.3 Uji Fitokimia

Pada penelitian ini juga dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sungkai:

#### a. Uji Flavonoid

Beberapa ml larutan uji diambil sebanyak 1 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes dan serbuk (Mg). Sampel positif mengandung flavonoid apabila mengalami perubahan warna jingga[27]

#### b. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol daun sungkai diambil sebanyak 1ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian sampel diujikan pada peraksi *Meyer*, pereaksi *Dragendorff* dan pereaksi *Wagner*. Sampel positif apabila terdapat endapan warna putih (pereaksi *Meyer*), endapan merah jingga (pereaksi *Dragendorff*) dan endapan coklat (peraksi *Wagner*)[28].

#### c. Uji Tanin

Sejumlah sampel diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 4 tetes. Sampel positif mengandung tannin bila

mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman[27].

d. Uji Terpenoid dan Steroid

Sejumlah sampel uji diteteskan pada plat tetes pada 3 titik (titik pertama untuk standar, dan dua titik lainnya untuk terpenoid dan steroid) dan dibiarkan hingga kering. Setelah kering, ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat sebanyak 1 tetes, asam asetat 1 tetes, kemudian diamati perubahan warnanya. Sampel positif bila mengalami perubahan warna menjadi merah atau coklat untuk terpenoid (triterpenoid) dan perubahan warna biru, ungu, atau hijau untuk steroid[27].

e. Uji Saponin

Disiapkan larutan uji sebanyak 1ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquadest, kemudian dikocok sebanyak 10 kali dan apabila terbentuk busa setinggi 1-10 cm maka positif tanin[27].

### 3.2.4 Preparasi Rayap Tanah

Rayap yang dipilih merupakan jenis dari *Coptotermes curvignathus* dari kasta pekerja. Rayap didapatkan dari pasar hewan yang menjual serangga.

Rayap yang digunakan merupakan rayap dewasa produktif.

### **3.2.5 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian menggunakan cara eksperimental. Rancangan penelitian ini merupakan modifikasi yang didasarkan pada penelitian Eskani (2019) dan Amaliyah (2019). Kayu dari jenis durian dipotong sesuai ukuran sampel uji berkisar (2,5 x 2,5 x 0,5) cm sebanyak 15 buah, kemudian kayu dikeringkan hingga konstan. Setelah dikeringkan, kayu-kayu tersebut lalu direndam dengan ekstrak daun sungkai di dalam *thinwall* berkapasitas 325 ml. Proses perendaman dilakukan dengan metode rendaman dingin menggunakan larutan ekstrak etanol dengan rasio ekstrak: 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% serta lama variasi waktu perendaman yaitu 1 jam, dan 2 jam dengan ulangan sebanyak tiga kali [4], [25].

### **3.2.6 Perhitungan Nilai Retensi**

Retensi adalah banyaknya senyawa berpengawet yang tertinggal dalam sampel kayu yang dinyatakan dalam satuan  $\text{Kg/m}^3$ . Nilai retensi digunakan untuk mengukur efektivitas pengawetan kayu.

Berikut merupakan umus untuk mencari nilai retensi:

$$R = \frac{B1 - B0}{V} \times K$$

Keterangan:

R : nilai retensi zat pengawet (kg/m<sup>3</sup>)

B1 : berat spesimen uji setelah pengawetan (kg)

B0 : berat spesimen uji sebelum pengawetan (kg)

V : volume spesimen uji (m<sup>3</sup>)

K : konsentrasi larutan pengawet

Untuk menghitung kadar air kayu menggunakan rumus berikut:

### 3.2.7 Penurunan Berat Kayu Durian

Cara untuk mengukur aktivitas ekstrak mampu tidaknya menghambat serangan rayap terhadap kayu perlu dilakukan uji pengumpanan kayu pada rayap. Rayap tanah dimasukkan ke dalam *thinwall* berkapasitas 325 ml yang telah berisi kayu durian. Contoh uji dimasukkan ke dalam *thinwall*, diletakan dengan cara berdiri pada dasar wadah dan disandarkan sedemikian rupa sehingga satu bidang terlebar contoh uji menyentuh dinding wadah, kemudian dimasukkan 100 g pasir lembab. Selanjunya kedalam setiap wadah dimasukkan rayap tanah

(*Coptotermes curvignathus*) sebanyak 20 ekor rayap. Kemudian wadah tersebut ditaruh pada tempat yang gelap selama 2 minggu dan diamati setiap 3 jam, 6 jam, 9 jam, 1 hari, 3, 5, 7 dan 14 hari[25]. Kemudian bila tercapai waktu ditentukan kayu diangkat untuk menghitung presentase pengurangan berat kayu menggunakan rumus:

$$PB (\%) = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100\%$$

Keterangan:

PB: Persen Pengurangan Berat Kayu

W1: berat kayu sebelum pengumpanan (g)

W2: berat kayu setelah pengumpanan (g)

Pengurangan berat merupakan salah satu indikator yang digunakan dalam menentukan ketahanan kayu terhadap serangan rayap. Semakin besar nilai pengurangan berat kayu, maka semakin tidak tahan kayu terhadap serangan rayap.

### 3.2.7 Perhitungan Persen Nilai LC<sub>50</sub>

Nilai LC<sub>50</sub> dihitung dengan persamaan regresi linier antara log<sub>10</sub> konsentrasi (X) dengan nilai probit mortalitas (Y). Sehingga akan didapatkan LC<sub>50</sub> dari ekstrak maserasi daun sungkai (*Peronema canescens* Jack). Jumlah kematian hama rayap tanah ditentukan persen mortalitasnya sebagai berikut [6], [29], [30]

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{\text{jumlah serangga mati}}{\text{jumlah total serangga}} \times 100\%$$