

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian laboratoris yang dilakukan dengan rancangan penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan 7 perlakuan konsentrasi ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) yaitu 0,3%, 0,6%, 1,2%, 2,4%, 4,8%. Penelitian ini diulang sebanyak 3 kali.

Variabel-variabel pada penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas :
  - Konsentrasi ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) yaitu: 0%; 0,3%; 0,6%; 1,2 %; 2,4%; 4,8% ( $V/V$ ).
  - Kontrol negatif (-) Aquades
  - Kontrol positif (+) Abate 3,54 mg/100ml
- b. Variabel terikat : jumlah mortalitas larva *Aedes aegypti* yaitu  $LC_{50}$ .

#### 3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2013 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.3 Alat dan Bahan**

#### **3.3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glas 100 ml, gelas ukur 100 ml, *rotary evaporator vacum*, timbangan digital, pipet tetes, mikropipet 1000  $\mu$ l, pipet ukur 10 ml, pengaduk kaca, aluminium foil, kertas saring, corong pemisah, erlenmeyer 250 ml, labur ukur 100 ml, blender, pipa kapiler, ember berdiameter 30 cm, pipet mulut lebar, penangas air, gelas aqua 220 ml, alat penghitung (*counter*), sendok.

#### **3.3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang diperoleh dari penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* dari Laboratorium Entomologi DINKES (Dinas Kesehatan) Propinsi Jawa Timur, sebanyak 750 ekor, serbuk rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebanyak 300 gr, 3 liter etanol 96%, serbuk hati untuk pakan larva, dan aquades.

### **3.4 Tahapan Penelitian**

Pada penelitian ini akan dilakukan beberapa tahap yaitu :

1. Preparasi sampel.
2. Ekstraksi rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Uji larvasida.
4. Pengambilan data.

5. Analisis data.

### 3.5 Cara Kerja

#### 3.5.1 Preparasi Sampel Larva

Obyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Instar III yang diperoleh dari hasil kolonisasi telur nyamuk *Aedes aegypti* Laboratorium Entomologi DINKES (Dinas Kesehatan) Propinsi Jawa Timur. Bahan-bahan yang diperlukan untuk kolonisasi nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah aquades, serbuk hati untuk makanan larva nyamuk mulai dari instar 1 sampai dengan instar III. Alat-alat yang digunakan untuk kolonisasi nyamuk antara lain loyang ukuran 30x20x6 cm<sup>3</sup>, pipet plastik bermulut lebar, gelas plastik (Palupi, 2012).

Proses penetasan telur dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Biokimia UIN Malang. Telur nyamuk *Aedes aegypti* dicelupkan dalam air aquades steril pada nampan plastik ukuran 30x20x6 cm<sup>3</sup> sebanyak 1 liter. Telur akan menetas setelah  $\pm$  24 jam menjadi larva instar I. Larva dipelihara dengan pemberian pakan serbuk hati hingga menjadi instar III selama 3-4 hari. Perubahan tiap instar ditunjukkan dengan terjadinya *ecdysis* (pelepasan kulit). Pemilihan larva instar III dilakukan atas dasar keseragaman umur sejak penetasan.

#### 3.5.2 Preparasi Sampel Tanaman

Sampel diambil bagian rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*). Sampel tersebut dikering anginkan selama 4 hari. Kemudian simplisia digiling hingga

menjadi serbuk. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 5 hari pada suhu kamar (Harborne, 1987). Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator vacuum sehingga didapatkan ekstrak pekat dari rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*).

#### **3.5.2.1 Ekstraksi Tanaman Menggunakan Metode Maserasi**

1. Serbuk kering rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) 300 gr dimasukkan dalam beaker glass.
2. Pelarut etanol 96% ditambahkan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) masing-masing 1 liter.
3. Larutan diaduk dengan pengaduk kinetik selama 1 jam, lalu didiamkan semalam (24 jam).
4. Larutan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) disaring menggunakan kertas saring whatman 40 untuk memisahkan antara ampas dan filtratnya (filtrat I).
5. Proses maserasi dilakukan terhadap ampas sebanyak empat kali sehingga diperoleh filtrat I,II,III,V, kemudian masing-masing ekstrak dicampur dan didapatkan total ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) (Palupi, 2012).
6. Etanol dalam larutan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga dihasilkan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*).

7. Dipindahkan ekstrak ke labu erlenmeyer dan dipekatkan lagi menggunakan waterbath pada suhu  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  sampai didapatkan ekstrak kental dengan bobot konstan (Palupi, 2012).

### **3.6 Tahapan Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Rimpang Alang-Alang (*Imperata cylindrica*)**

1. Konsentrasi negatif 0% (Kontrol : berisi aquades 100 ml)
2. konsentrasi 0,3% (berarti mengambil 0,3 ml ekstrak rimpang alang-alang (*I. cylindrica*) di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).
3. konsentrasi 0,6% (berarti mengambil 0,6 ml ekstrak rimpang alang-alang (*I. cylindrica*) di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).
4. konsentrasi 1,2% (berarti mengambil 1,2 ml ekstrak rimpang alang-alang (*I. cylindrica*) di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).
5. konsentrasi 2,4% (berarti mengambil 2,4 ml ekstrak rimpang alang-alang (*I. cylindrica*) di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).
6. konsentrasi 4,8% (berarti mengambil 4,8 ml ekstrak rimpang alang-alang (*I. cylindrica*) di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).

7. Kontrol positif yaitu abate konsentrasi 3,54 mg/100ml (berarti mengambil 3,54 mg abate di masukkan dalam labu takar 100 ml dengan menambahkan aquades hingga 100 ml).

### 3.7 Uji Larvasida

1. Disiapkan larva *Aedes aegypti* instar III yang diperlukan.
2. Ekstrak uji dibuat dalam berbagai konsentrasi dalam gelas plastik 220 ml. Dan ditambahkan aquades hingga 100 ml. Adapun konsentrasi yang digunakan adalah: 0%; 0,3%; 0,6%; 1,2%; 2,4%; 4,8% (V/v).
3. Larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam gelas plastik 220 ml yang telah berisi ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) yang telah disiapkan masing-masing sebanyak 25 ekor.
4. Jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati diamati dan dihitung setelah 12, 24, 36, 48, 60, dan 72 JSA (Jam Setelah Aplikasi).

### 3.8 Parameter Yang Diamati

1. Mortalitas yaitu salah satu variabel yang dijadikan sebagai indikator toksisitas ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) yang didapatkan dengan menghitung persentase larva uji menggunakan rumus (Bushivne, 1971):

$$A1 = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Dimana,

A1 = persentase larva uji yang mati

A = jumlah larva uji yang mati dalam setiap gelas

B = jumlah larva uji keseluruhan pada masing-masing gelas

2. LC<sub>50</sub> (Lethal Concentration) adalah konsentrasi dari suatu bahan yang menyebabkan 50% populasi mengalami kematian. LC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan model hubungan antara mortalitas dan konsentrasi (Bushvine, 1971). Model diperoleh dari hasil analisis menggunakan analisis probit.

### 3.9 Pengumpulan Data

Data yang diambil pada penelitian ini adalah data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa morfologi larva nyamuk *Aedes aegypti*. sedangkan data kuantitatif berupa persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* hingga 72 jam.

### 3.10 Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA satu arah (One Way Anova) untuk mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) terhadap jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III, jika dari hasil analisis tersebut ada perberbedaan nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) program SPSS 16. Dan untuk mengetahui besarnya LC<sub>50</sub> menggunakan analisis program probit.

Data kualitatif berupa morfologi pada larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati, dianalisis secara deskriptif dengan membandingkannya dengan larva nyamuk yang normal.

