

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Tahapan penelitian untuk mengetahui aktivitas biolarvasida serai dapur terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* terdiri dari lima tahap yaitu:

1. Ekstraksi serai dapur baik melalui maserasi untuk memperoleh ekstrak etanol, maupun dengan destilasi uap untuk memperoleh minyak atsiri serai dapur
2. Pengujian kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol serai dapur melalui uji fitokimia
3. Pengujian kandungan metabolit sekunder minyak atsiri serai dapur melalui analisis *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC-MS)
4. Pengujian biolarvasida ekstrak etanol serai dapur terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*
5. Pengujian biolarvasida minyak atsiri serai dapur terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

B. Objek, Lokasi dan Waktu Penelitian

Objek pada penelitian ini adalah ekstrak etanol serai, dan minyak atsiri serai dapur yang diperoleh dari CV Atsiri Garden Indonesia, Subang, dan larva nyamuk *Aedes aegypti*. Adapun lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Riset dan Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI, CV Atsiri Garden Indonesia, Subang serta Laboratorium Parasitologi Departemen Analisis Kesehatan STIKES UNJANI, Cimahi, Jawa Barat. Waktu penelitian dimulai pada bulan Juni 2016 hingga September 2016.

C. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data meliputi :

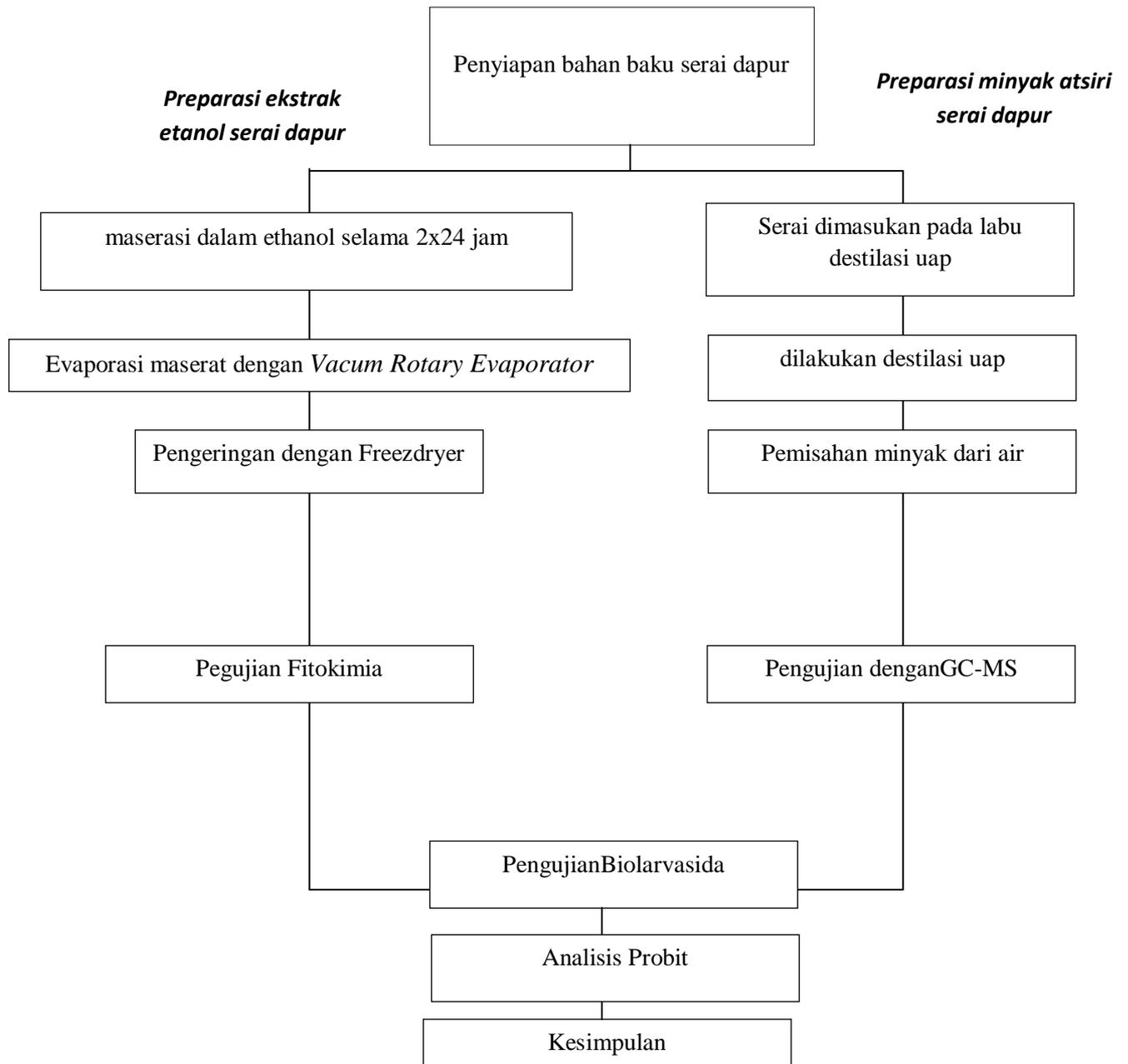
1. Untuk melakukan ekstraksi, instrumen yang digunakan yaitu set alat ekstraksi terdiri dari pompa vakum, corong Buchner, *Vacuum Rotary Evaporator*, neraca analitik, mikropipet, set alat destilasi uap dan peralatan gelas laboratorium lainnya.
2. Instrumen yang digunakan untuk melakukan analisis kandungan senyawa yaitu GC-MS dengan merk alat Shimadzu QP 5050 Z dengan detector DB 5 MS. Memiliki suhu kolom 60°C, suhu detektor 300°C, suhu injektor 280°C, waktu analisa 280°C dengan waktu analisa 30 menit dan volume injeksi 0,2 μL

D. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi bahan-bahan yang diperoleh untuk ekstraksi, uji fitokimia dan uji biolarvasida. Untuk keperluan ekstraksi diperlukan etanol teknis, aquades dan serbuk serai dapur. Untuk uji fitokimia diperlukan FeCl_3 1% untuk uji tanin, NaOH 1 N untuk uji kuinon. Untuk uji biolarvasida diperlukan larva nyamuk *Aedes aegypti*, etanol dalam aquades dengan perbandingan 9:1 (Aquades:Etanol), minyak atsiri serai dapur dan ekstrak serai dapur.

E. Alur Penelitian

Penelitian ini dilakukan mengikuti alur penelitian yang ditunjukkan Gambar 3.1



Gambar 3.1. Alur Penelitian

F. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dalam lima tahap, yaitu (1) tahap ekstraksi serai dapur melalui maserasi untuk memperoleh ekstrak etanol serai dapur, (2) tahap ekstraksi minyak atsiri serai dapur melalui destilasi uap, (3) tahap analisis kandungan ekstrak etanol serai dapur melalui uji fitokimia, (4) tahap analisis kandungan minyak atsiri serai dapur melalui analisis GCMS, (5) tahap uji biolarvasida ekstrak etanol serai dapur dan minyak atsiri serai dapur. Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian tersebut diuraikan sebagai berikut:

1. Tahap Maserasi

- a. Serai dapur dikeringkan kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk
- b. Serbuk serai dapur diekstraksi menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol selama 2x24 jam
- c. Ekstrak disaring dengan menggunakan corong Buchner berpompa vakum
- d. Filtrat selanjutnya dievaporasi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*
- e. Hasil evaporasi kemudian dikeringkan dengan alat *freezedryer*

2. Tahap Destilasi Uap

- a. Serai dapur dimasukkan ke dalam kontainer destilasi
- b. Ditambah air hingga memenuhi container
- c. Bejana kemudian ditutup dan dibakar menggunakan tungku pembakaran
- d. Panas uap hasil pemanasan akan dialirkan ke pipa kondensor untuk dikondensasi
- e. Filtrat ditampung pada separator terjadilah pemisahan antara minyak dan air
- f. minyak disaring dengan kain monel untuk memisahkan minyak dengan kotorannya dan air yang ikut bersamanya

3. Tahap Analisis kandungan minyak atsiri serai dapur
 - a. Ekstrak kering dilarutkan hingga pekat dengan beberapa tetes etanol
 - b. Larutan pekat ekstrak diinjeksikan ke alat GC-MS dalam suhu kolom 60^oC dan volume 0,2 µL.

4. Uji fitokimia ekstrak etanol serai dapur
 - a. Uji Saponin

Sampel kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquades. Dididihkan selama 2-3 menit kemudian didinginkan dan dikocok selama 5 menit. Jika berbuih menandakan adanya saponin.
 - b. Uji Tanin

Sampel cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml FeCl₃ 10%. Jika terjadi perubahan warna menjadi hijau pekat atau biru pekat kehitaman menandakan adanya tanin
 - c. Uji Kuinon

Sampel cair dimasukkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi kemudian diteteskan NaOH 1N. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah menandakan adanya kuinon

5. Uji aktivitas biolarvasida ekstrak etanol serai dapur
 - a. Lima gelas berukuran 16 onz berisi larutan etanol dalam air 200 mL dengan perbandingan air:etanol (9:1) disiapkan untuk pengujian, empat gelas untuk sampel dan satu gelas sebagai kontrol
 - b. Sampel dibuat dengan empat variasi konsentrasi, yaitu 500, 750, 1000, dan 1250 ppm.
 - c. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam gelas yang berbeda.
 - d. Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan air : etanol (9:1) sebanyak 200 mL
 - e. Setelah itu dimasukkan 15 larva ke dalam masing-masing gelas.

- f. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi.
 - g. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam.
 - h. Dilakukan pengamatan dengan waktu berkala selama 6 jam pertama selang satu jam.
 - i. Setelah diperoleh data, maka dilakukan analisis probit untuk mencari konsentrasi kematian (LC).
6. Uji aktivitas biolarvasida minyak atsiri serai dapur
- a. Limagelas berukuran 16 onz berisi larutan etanol dalam air 200 mL dengan perbandingan air:etanol (9:1) disiapkan untuk pengujian, empat gelas untuk sampel dan satu gelas sebagai kontrol
 - b. Sampel dibuat dengan empat variasi konsentrasi, yaitu 360 mg/L, 540 mg/L, 720 mg/L dan 900 mg/L
 - c. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam gelas yang berbeda.
 - d. Setelah itu dimasukkan 15 larva ke dalam masing-masing gelas.
 - e. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi.
 - f. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam.
 - g. Dilakukan pengamatan dengan waktu berkala selama 6 jam pertama selang satu jam.
 - h. Setelah diperoleh data, maka dilakukan analisis probit untuk mencari konsentrasi kematian (LC).

G. Teknik Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini khususnya data hasil uji biolarvasida diolah sebagai berikut:

1. Analisis komposisi senyawa minyak atsiri serai dapur menggunakan GC-MS dan ekstrak etanol serai dapur melalui uji fitokimia
2. Uji Biolarvasida minyak serai dapur

Langkah-langkah untuk mengetahui aktivitas biolarvasidaminyakatsiri serai dapur dan ekstrak etanol serai dapur (*Cymbopogon citratus*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut:

- a. Diolah dalam bentuk grafik.
- b. Menghitung nilai LC(Lethal Concentration) 50.
- c. Melengkapi data log 10 konsentrasi, jumlah ulangan, total larva yang digunakan, jumlah larva yang mati, persentase mortalitas, persentase mortalitas terkoreksi, dan nilai probit.
4. Menghitung % mortalitas dengan cara $= \frac{\text{Jumlah h yang mati}}{\text{Jumlah h total larva}} \times 100 \%$
5. Menghitung mortalitas terkoreksi, sesuai ulangan

$\% \text{ mortalitas terkoreksi} =$

$$\frac{\text{Jumlah h \% mortalitas perlakuan} - \% \text{ mortalitas kontrol ulangan yang sama}}{100 - \text{Jumlah h mati pada kontrol}}$$

6. Menentukan rata-rata % mortalitas terkoreksi dengan membagi total mortalitas terkoreksi dengan jumlah ulangan yang dilakukan.
7. Mencari nilai probit untuk mortalitas terkoreksi yang didapatkan dengan cara mencocokkan pada tabel 3.1,

Tabel 3.1 Tabel Nilai Probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.07	2.95	3.12	3.25	3.30	3.45	3.52	3.59	3.60
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

8. Membuat grafik hubungan antara nilai probit mortalitas (sumbu y) dan Log_{10} konsentrasi (sumbu x)
9. Mencari nilai x dengan memasukan nilai 5 ke persamaan yang didapat. Kemudian ditentukan LC50 dengan antilog(x) atau 10^x .