

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental laboratorium *post test only-control design* yang bertujuan untuk mengetahui *ovicidal activity* ekstrak ethanol kulit terhadap telur *Aedes aegypti*. Pada kelompok perlakuan kontrol (–) menggunakan air sumur, karena air sumur merupakan habitat alami telur nyamuk dalam melakukan proses metamorfosis. Sedangkan kelompok perlakuan kontrol (+) menggunakan *abate*.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan telur *Aedes aegypti* yang diperoleh dari DINKES Surabaya. Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

a). Telur *Aedes aegypti* yang masih aktif

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan, dimana masing-masing perlakuan menggunakan 25 butir telur *Aedes aegypti*. Rumus untuk estimasi jumlah pengulangan (Solimun, 2001) :

$$p(n-1) \geq 16$$

Dengan

n = Jumlah pengulangan tiap perlakuan

p= Jumlah perlakuan/kelompok coba (6)

maka,

$$p(n-1) \geq 16$$

$$6(n-1) \geq 16$$

$$6n- 5 \geq 16$$

$$n \geq 4= 4$$

Dari rumus tersebut, jika banyak perlakuan adalah 6 maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan adalah 4.

4.3 Perlakuan

Terdapat 6 kelompok perlakuan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Perlakuan I:
Direndam dengan air sumur sebagai kontrol negatif
2. Perlakuan II:
Direndam abate dengan konsentrasi 10% sebagai kontrol positif
3. Perlakuan III:
Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%
4. Perlakuan IV:
Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 1%
5. Perlakuan V:
Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 1,5%
6. Perlakuan VI:
Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 2%

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Dependent (tergantung)

Variabel dependent (tergantung) adalah jumlah telur *Aedes aegypti* yang tidak berhasil melakukan penetasan.

4.4.2 Variabel Independent (bebas)

Variabel independent (bebas) adalah jumlah konsentrasi pada setiap kelompok perlakuan

4.5 Definisi Operasional

1. Kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) yang dipakai adalah kulit dari buah manggis (*Garcinia mangostana* L) yang didapatkan dari Materia Medica Batu.
2. Ekstrak ethanol kulit manggis diformulasikan menjadi 4 konsentrasi, yaitu konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% menggunakan pelarut air sumur yang dilaksanakan di Lab. Parasitologi FKUB.
3. Pada penelitian ini, dilakukan pembuktian adanya *ovicidal activity* pada ekstrak kulit manggis. *Ovicidal activity* adalah daya yang dimiliki oleh senyawa yang menyebabkan telur tidak menetas.
4. Telur *Aedes aegypti* yang tidak menetas adalah telur yang dianggap mati sehingga tidak bisa menetas dan menjadi larva. Dengan kriteria telur yang mengapung adalah telur yang masih aktif sedangkan telur yang tenggelam adalah telur yang sudah inaktif dan mengalami kerusakan. Dibuktikan secara mikroskopis terjadinya kerusakan.

4.6 Lokasi dan waktu pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Januari sampai Maret tahun 2016.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ethanol kulit manggis serta alat-alat yang digunakan untuk uji potensi ekstrak kulit manggis sebagai ovisida telur *Aedes aegypti* :

4.7.1 Alat-alat Penelitian

- a) Alat Pembuatan Ekstrak ethanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) yaitu : Blender, tabung untuk merendam kulit manggis yang sudah diblender, saringan, kertas saring, gelas ekstraksi (botol), neraca analitik, klem stat, oven, timbangan, seperangkat alat evaporasi vakum (Rotary evaporator, pompa vakum, tabung pendingin dan alat pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, labu penampung hasil evaporasi, labu penampung etanol, batu didih, cawan penguap, alat pemanas aquades (*water bath*) dan pipa plastik).
- b) Alat – alat untuk uji potensi ekstrak ethanol kulit manggis yaitu ; Gelas plastik 250ml (24 buah), pipet tetes, kertas saring, timbangan ekstrak, sendok lab, tabung ukur, object glas dan mikroskop.

4.7.2 Bahan – bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ethanol kulit manggis dan bahan uji potensi ekstrak ethanol kulit manggis sebagai ovisidal:

- a) Bahan Pembuatan Ekstrak Ethanol Kulit manggis (*Garcinia mangostana* L), yaitu ; Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L)

yang telah dikeringkan, aquades, etanol 96% sebagai pelarut, dan aseton.

- b) Bahan-bahan untuk uji potensi, yaitu ; Telur nyamuk *Aedes aegypti*, air sumur, ekstrak kulit manggis, dan abate.

4.8 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.8.1 Ekstraksi Kulit Kayu Manggis

- Bubuk manggis yang sebanyak 0,5 kg dimasukkan dalam tabung untuk direndam dengan ethanol sebanyak 500cc.
- Pelarut ethanol dimasukkan ke dalam tabung tersebut sampai serbuk yang ada di dalam kertas saring terendam dalam pelarut ethanol selama kurang lebih 1 minggu.
- Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak kulit manggis dengan pelarut ethanol, didapat bahan semacam pasta yang mempunyai konsentrasi 100%).

4.8.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Kulit Manggis (Lab Kimia Polinema)

- Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30 hingga 40 derajat terhadap meja percobaan.
- Hasil rendaman ethanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendinginan spiral dihubungkan pada dengan vakum melalui selang plastik, dan dihubungkan pula dengan waterpump juga melalui selang plastik.

- Waterpump ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, kemudian dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
- Evaporator diletakkan sedemikian rupa, sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada waterbath.
- Vakum dan waterbath dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu waterbath dinaikkan sesuai titik didih ethanol yaitu 78 derajat.
- Pada titik didih ethanol terjadi penguapan antara ethanol dengan zat aktifnya ekstrak kulit manggis.
- Biarkan sirkulasi (pemisahan ethanol dengan ekstrak kulit manggis) berjalan sampai ethanol berhenti mengalir pada labu pemisah selama kurang lebih 2-3 jam.
- Setelah ini ekstrak yang tertinggal pada labu evaporator dipindahkan pada cawan penguap dan dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60 derajat selama 2-3 jam.
- Hasil akhir diperoleh ekstrak kulit manggis berupa pasta yang berwarna merah kecoklatan. Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan.

4.9 Cara Kerja Penelitian

- Ekstrak ethanol kulit manggis dimasukkan ke dalam gelas plastik disesuaikan dengan konsentrasi yang diinginkan sesuai kelompok perlakuan.
- Pembuatan ekstrak ethanol kulit manggis dengan konsentrasi yang berbeda menggunakan pelarut air sumur yang tidak mengandung obat dengan kata lain masih alami. Pada konsentrasi 0,5% digunakan perbandingan 0,5g ekstrak ethanol dengan pelarut air sumur 100 mL. Pada konsentrasi 1%, perbandingannya 1g ekstrak ethanol kulit manggis dengan pelarut 100 mL. Pada konsentrasi 1,5% perbandingannya 1,5g ekstrak ethanol kulit manggis dengan pelarut air sumur 100 mL. Pada konsentrasi 2%, perbandingannya 2g ekstrak ethanol dengan pelarut air sumur 100mL.
- Kelompok kontrol negatif diberi air sumur pada gelas plastik yang telah dikonfirmasi tidak mengandung bahan-bahan ovisidal kimia dengan melakukan penelitian pendahuluan. Dan kelompok kontrol positif diberi abate konsentrasi 10%.
- Kemudian dimasukkan telur *Aedes aegypti* pada masing – masing kelompok perlakuan.
- Masing-masing perlakuan berisi 25 butir telur *Aedes aegypti* dengan pengulangan 4 kali.
- Kemudian dilakukan pengamatan tiap 12 jam selama 2 hari.
- Uji bahan aktif flavonoid, saponin, dan tanin dilakukan di Lab.Parasitologi. Pada uji flavonoid sampel ditambahkan dengan 0,5 gr serbuk Mg, kemudian ditetesi dengan 5 tetes HCL padat. Apabila terjadi perubahan

warna menjadi orange kekuningan mengindikasikan bahwa sampel mengandung senyawa aktif flavonoid.

- o Pada uji bahan aktif saponin, sampel dilarutkan pada 10 mL air panas kemudian dikocok ± 10 detik. Kemudian ditambahkan HCL 2M. Apabila terdapat busa pada sampel, dan busa tidak hilang selama ± 10 detik maka sampel tersebut mengandung bahan aktif saponin.
- o Pada uji bahan aktif tanin, sampel dilarutkan dalam 10mL aquades, kemudian dilakukan penyaringan yang menghasilkan filtrat. Setelah itu ditambahkan 3 tetes FeCl 1%. Apabila terdapat perubahan warna menjadi hijau kehitaman, maka sampel tersebut mengandung bahan aktif tanin.

Telur yang tidak menetas akan dicatat dan dihitung menggunakan rumus

Ovicidal Activity, yaitu :

$$\text{Rumus ovicidal activity (\%)} = \frac{\text{Jumlah telur gagal menetas}}{\text{Jumlah telur keseluruhan}} \times 100$$

(Gabriel,2015)

4.10 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Kruskal Wallis*. *Kruskal Wallis* sendiri adalah uji nonparametrik berbasis peringkat yang tujuannya untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel. Metode *Kruskal Wallis* digunakan untuk menganalisis apakah ekstrak kulit manggis mempunyai efek sebagai ovisidal terhadap telur

nyamuk *Aedes aegypti* dengan melihat nilai signifikansi. Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas $\leq$ level of significance ($\alpha = 5\%$) maka H_0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang konsentrasi yang menghasilkan jumlah telur *Aedes Aegypti* yang mati yang berbeda signifikan.

Kemudian dilakukan uji untuk mengetahui perbedaan pengaruh konsentrasi terhadap jumlah telur *Aedes Aegypti* yang mati dilakukan menggunakan *Bonferoni Test* dengan kriteria apabila satu pasang konsentrasi yang menghasilkan probabilitas $\leq$ level of significance ($\alpha = 5\%$) maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi tersebut.

