

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Tipe penelitian ini merupakan studi eksperimental yang dilaksanakan di laboratorium. Penelitian ini membandingkan jumlah larva yang mati antara penggunaan temephos (Abate) dan larvasida alami yang diambil dari ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) dengan beragam dosis yang berbeda. Rancangan penelitian ini menggunakan *pos test only with control group design*.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Proses ekstraksi daun jambu mete (*anacardium occidentale*) dilakukan di laboratorium Universitas Borneo Lestari Banjarmasin dan proses pengujian larvasida di Instalasi Kesehatan Lingkungan, Vektor dan Binatang Pembawa Penyakit Untuk Penelitian Kabupaten Tanah Bumbu Kalimantan Selatan pada bulan Januari 2024 – Juni 2024.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi merupakan keseluruhan objek atau subjek yang memiliki sifat dan karakteristik tertentu sesuai dengan penetapan peneliti untuk tujuan penelitian dan sebagai dasar dalam penarikan kesimpulan. Menurut Sujarweni (2015), definisi ini mengacu pada

totalitas dari semua objek atau subjek yang menjadi fokus penelitian.

Populasi penelitian ini adalah tanaman Jambu Mete.

3.3.2 Sampel

Sampel merupakan bagian keseluruhan jumlah serta ciri-ciri yang terdapat pada populasi tersebut yang dinyatakan oleh Sugiyono (2016). Sampel dari penelitian ini adalah daun muda jambu mete yang tidak bolong atau rusak.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel yang bersifat independen dalam studi ini mencakup perbedaan dosis ekstrak etanol 70% dari jambu mete.

3.4.2 Variabel Terikat

Dalam studi ini, variabel yang dianalisis adalah nilai LD50 (lima puluh) dari ekstrak etanol 70% (tujuh puluh persen) dari daun jambu mete terhadap larva nyamuk *Aedes albopictus* pada fase instar III (tiga).

3.5 Definisi Operasional

Sugiono (2019) mengungkapkan bahwa definisi operasional dari variabel mencakup semua komponen yang dipilih oleh peneliti untuk dianalisis, dengan tujuan untuk memperoleh informasi terkait komponen tersebut, yang kemudian akan digunakan untuk menarik kesimpulan.

Tabel 1. Definisi Operasional

Uraian	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil
1 Daun jambu	Larvasida alami	Skrining	Tabung	Rasio	Saponin,

mete (<i>anacardium occidentale</i>)	berbahan daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i>) yang dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%	dasar mete Rendemen	fitokimia dan Rendemen	reaksi		Tanin, Flavonoid, Alkaloid dan Terpenoid/steroid
2 Dosis ekstrak	Hasil dari ekstraksi daun jambu mete dengan menggunakan pelarut etanol 70%	Rendemen dan seri dosis		g/100 mL	Rasio	Dosis 0,1 (nol koma satu) g/100 mL; 0,3 (nol koma tiga) g/100 mL; 0,5 (nol koma lima) g/100 mL; 0,7 (nol koma tujuh) g/100 mL; 0,9 (nol koma sembilan) g/100 mL
3 Larva nyamuk instar III	Larva nyamuk dengan lebar kepala kurang 0.65 mm	nyamuk ukuran lebh kepala larva	Besar ukuran kepala larva	milimeter (mm)	Rasio	Jumlah larva nyamuk <i>aedes albopictus</i> instar III 15 ekor
4 Pada fase instar III, larva nyamuk <i>Aedes</i>	Jumlah nyamuk <i>albopictus</i> yang mati akibat	larva <i>Aedes</i> instar III akibat	LD ₅₀	Perkiraan jumlah kematian larva	Rasio	LD ₅₀ (50%) Kematian larva nyamuk <i>Aedes</i>

albopictus	larvasida alami	nyamuk	<i>albopictus</i>
mengalami	ekstrak etanol 70%	Aedes	instar III
kematian.	daun jambu mete	albopictus	
	dengan gejala	pada	
	toksik yaitu tidak	instar III	
	bergerak setelah	dilakukan	
	digerakkan dengan	secara	
	batang pengaduk	manual.	
	dan tenggelam.		

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Dalam studi ini, peralatannya mencakup gelas plastik, gelas ukur (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), dan piring porselen, sendok logam, kaca arloji, neraca analitik (Ohaus), toples, kertas label, batang pengaduk, tabung reaksi, kaki tiga, spiritus, gelas beaker (*Pyrex*), tisu, pipet tetes dan pipet volume (*Pyrex*).

3.6.2 Bahan Penelitian

Dalam penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak daun jambu mente, larva nyamuk *Aedes albopictus* tahap III, etanol dengan konsentrasi 70%, aquadest, abate 1%, serbuk Magnesium, Asam Klorida (HCl) pekat (cahaya kimia), klorofom (CHCl₃), ammonia (NH₄OH), Pereaksi *mayer*, Pereaksi *wagner*, Pereaksi *dragendorf*, aquadest, Besi (II) Klorida (FeCl₃) (cahaya kimia), Asam Sulfat (H₂SO₄) pekat, asam asetat anhidrat ((CH₃CO)₂O).

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Serbuk daun jambu mete (*anacardium occident tale*)

Petik daun muda jambu mete sebanyak 2000 gr kemudian disortasi basah, setelah itu cuci dengan menggunakan air lalu jemur dibawah sinar matahari sampai kering. Kemudian ditimbang daun jambu mete sebanyak 700 gram yang kering dihaluskan dan gunakan ayakan 40 mesh.

3.7.2 Pembuatan Ekstrak daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*)

Sebanyak 700 (tujuh ratus) gram Serbuk daun jambu mete, dimaserasi (direndam) menggunakan pelarut etanol 70% dengan 3 liter hingga serbuk terendam selama 3 x 24, kemudian diaduk dengan batang pengaduk lalu disaring menggunakan corong yang dialasi dengan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Hasil dari penyaringan dipekatkan dengan *waterbath* sehingga dihasilkan ekstrak daun jambu mete. Setelah melakukan *waterbath*, kemudian dilakukan perhitungan rendemen dengan rumus menurut AOAC, (1999) dalam Aristyanti *et al*, (2017) dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat simplisia yang didapat}}{\text{Berat simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

3.7.3 Uji Skrining Fitokimia

Hasil ekstraksi dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) uji skrining fitokimia dilaksanakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam daun jambu mete (*Anacardium occidentale*).

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 (satu) mL ekstrak dicampurkan dengan 3 (tiga) mL etanol 70%, kemudian ditambahkan 0,1 (nol koma satu) g serbuk magnesium dan 2 (dua) tetes HCl pekat, lalu diamati endapan yang dihasilkan. Jika terbentuk warna merah, itu menunjukkan adanya flavonoid secara positif.

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 (satu) mL ekstrak dicampur dengan kloroform dan 1 (satu) mL amonia, kemudian ditambahkan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Biarkan selama 5 (lima) detik, kemudian amati endapan yang dihasilkan. Terdapat endapan berwarna jingga di dalam tabung Mayer, endapan berwarna coklat di tabung Wagner, serta endapan berwarna putih di tabung Dragendorff, yang menandakan keberadaan alkaloid.

c. Uji Tanin

Sebanyak 1 (satu) mL ekstrak dicampurkan dengan 20 (dua puluh) mL aquades, kemudian filtrat tersebut ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1% (satu persen) dan kemudian diamati perubahan warnanya. Kehadiran senyawa tanin dapat dikenali melalui perubahan warna ekstrak yang berubah menjadi hijau kecoklatan.

d. Uji Saponin

Sebanyak 10 (sepuluh) mL air distilasi dicampur 1 (satu) mL ekstrak, lalu dikocok dan dibiarkan selama 15 (lima belas) menit

untuk mengamati pembentukan buih. Jika muncul buih dengan ketinggian sekitar 3 (tiga) cm dari permukaan, ini menandakan adanya saponin.

e. Uji Terpenoid/Steroid

Sebanyak 1 (satu) mL ekstrak, 2 (dua) mL kloroform, dan 3 (tiga) mL H₂SO₄ berkonsentrasi tinggi dicampurkan, kemudian perubahan warna pada bagian tengah larutan diamati. Jika di tepi larutan terbentuk cincin berwarna coklat atau violet, hal ini mengindikasikan adanya triterpenoid. Sebaliknya, jika muncul cincin berwarna biru kehijauan, itu menunjukkan kehadiran steroid. (Afridayanti, 2017).

3.7.4 Pembuatan Dosis Ekstrak

Dosis ekstrak daun jambu mete yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,1 (nol koma satu) gr/mL; 0,3 (nol koma tiga) gr/mL; 0,5 (nol koma lima) gr/mL; 0,7 (nol koma tujuh) gr/mL; 0,9 (nol koma sembilan) gr/mL dan untuk abate 0,01 (nol koma nol satu) g/mL. Rumus yang digunakan untuk mengetahui penentuan banyaknya melakukan replikasi pada setiap perlakuan yakni menggunakan rumus sebagai berikut:

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(7-1) (n-1) \geq 15$$

$$(6n-6) \geq 15$$

$$n = \frac{\geq 15 + 6}{6}$$

$$n = 3.5$$

Keterangan :

t : perlakuan

r : replikasi

Dengan cara ini, setiap perlakuan dilakukan tiga (3) kali untuk memastikan dibutuhkan sebanyak tiga ratus lima belas (315) ekor larva *Aedes albopictus* pada penelitian ini.

Tabel 2. Jumlah Ekstrak Yang Dibutuhkan

Dosis	Ekstrak Kental	Pengulangan (Ekstrak Kental x3) (mL)
0,1 g/100mL (nol koma satu gram per seratus mililiter)	0,1 mL (nol koma satu mililiter)	0,3 mL (nol koma tiga mililiter)
0,3 g/100mL (nol koma tiga gram per seratus mililiter)	0,3 mL (nol koma tiga mililiter)	0,9 mL (nol koma sembilan mililiter)
0,5 g/100mL (nol koma lima gram per seratus mililiter)	0,5 mL (nol koma lima mililiter)	1,5 mL (satu koma lima mililiter)
0,7 g/100mL (nol koma tujuh gram per seratus mililiter)	0,7 mL (nol koma tujuh mililiter)	2,1 mL (dua koma satu mililiter)
0,9 g/100mL (nol koma sembilan gram per seratus mililiter)	0,9 mL (nol koma sembilan mililiter)	2,7 mL (dua koma tujuh mililiter)

Total	7,5 mL
-------	--------

Tabel 3. Kelompok Perlakuan

Kontrol	Dosis	Jumlah Larva x Pengulangan	Total
Pengendalian Negatif	0 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Pengendalian Positif	0,01 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Dosis Tingkat I	0,1 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Dosis Tingkat II	0,3 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Dosis Tingkat III	0,5 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Dosis Tingkat IV	0,7 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
Dosis Tingkat V	0.9 g/100 mL	15 larva x 3	45 larva
	Total		315 larva

Kelompok positif diberi dosis 0.01% Abate yang dilarutkan dalam seratus mililiter (100 mL) aquades. Kelompok kontrol negatif diberikan seratus mililiter (100 mL) aquades, sementara kelompok perlakuan mendapatkan lima dosis, yaitu larutan ekstrak daun jambu mete dengan konsentrasi 0,1 gram per seratus mililiter (0,1 g/100 mL); 0,3 gram per seratus mililiter (0,3 g/100 mL); 0,5 gram per seratus mililiter (0,5 g/100 mL); 0,7 gram per seratus mililiter (0,7 g/100 mL); dan 0,9 gram per seratus mililiter (0,9 g/100 mL). Setiap takaran dicampurkan ke dalam aquadest hingga total volumenya mencapai 100 mL, yang telah mengandung 15 individu larva *Aedes albopictus* pada tahap Instar III masing-masing.

3.7.5 Uji Biolarvasida

Siapkan tempat plastik yang sudah diberi label sesuai dengan varian dosisnya, kemudian isi dengan larutan uji yang sudah di campur dengan ekstrak daun jambu mete (*anacardium occidentale*) dengan dosis 0,1 gram per mililiter (satu per sepuluh), 0,3 gram per mililiter (tiga per sepuluh), 0,5 gram per mililiter (setengah), 0,7 gram per mililiter (tujuh per sepuluh), 0,9 gram per mililiter (sembilan per sepuluh), dan 0,01 persen abate (kontrol positif), dan larutan uji aquadest (kontrol negatif). Setelah itu masukkan larva *Aedes albopictus* instar III ke dalam tempat plastik yang sudah berisikan larutan uji sebanyak 15 ekor, setelah itu lakukan pengamatan selama 12 jam setiap 1 jam sekali dan 12 jam selama 3 jam sekali. Larva yang telah mati dapat dikenali dari posisinya yang terletak di dasar gelas plastik, tidak menunjukkan aktivitas, serta tidak mampu merespons rangsangan.

3.8 Pengolahan Data

Pengolahan harus dilaksanakan terlebih dahulu sebelum analisis data dapat dilakukan. Proses pengolahan informasi dalam penelitian ini mencakup:

1. *Coding* yaitu pemberian kode pada atribut variabel penelitian.
2. *Tabulating* yaitu pengelompokan informasi berdasar karakteristik yang dimiliki sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai.
3. *Entri* yaitu pada proses pencatatan informasi mengenai kandungan ekstrak daun jambu mete serta tingkat kematian larva nyamuk *Aedes albopictus* dalam bentuk angka.

3.9 Analisa Data

Setelah mengumpulkan data mengenai jumlah larva yang masih hidup dan yang telah mati, selanjutnya dilakukan analisis statistik:

1. Uji Analisis Varian (ANOVA)

Mengamati keberadaan variasi angka kematian larva nyamuk *Aedes albopictus* di semua kelompok uji. Uji ANOVA dapat diterapkan jika distribusi data bersifat normal dan variansnya seragam. Apabila kondisi yang ditentukan telah dipenuhi, maka akan dilanjutkan dengan pengujian parametrik. Apabila distribusi data tidak mengikuti apabila pola distribusi atau variasi data tidak stabil, maka dapat digunakan pendekatan alternatif berupa uji non-parametrik.

2. Analisis Probit

Mempelajari efektivitas ekstrak daun jambu mete dalam membunuh larva nyamuk *Aedes albopictus* yang dijelaskan melalui LD_{50} (*Lethal Dose*) yaitu LD_{50} .