

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2014, bertempat di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak daun kemangi hutan (*Ocimum sanctum*) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur berfungsi sebagai tempat untuk mengukur seberapa banyak hasil ekstraksi yang diperoleh, bejana kaca sebagai tempat pembuatan ekstrak, pengaduk berfungsi untuk meratakan rendaman, kertas saring yang berfungsi untuk memisahkan ekstrak dengan filtratnya, *vacum rotary evaporator* yaitu alat yang berfungsi untuk memekatkan hasil ekstraksi, nampan plastik berfungsi sebagai tempat penetasan telur hingga menjadi larva instar III, gelas plastik berfungsi sebagai wadah untuk meletakkan larva dengan ekstrak, pipet tetes berfungsi untuk memindahkan larva dari nampan ke

gelas plastik dan berfungsi untuk mengambil ekstrak daun kemangi hutan dari gelas ukur, dan *stopwatch* berfungsi sebagai alat pencatat waktu pengamatan.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi hutan, larva instar III *Aedes aegypti*, etanol sebagai pelarut, dan aquades sebagai pengencer ekstrak.

C. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan ekstrak daun kemangi hutan akan dilakukan berdasarkan WHO (2005), menggunakan 5 konsentrasi yakni 0,3%, 0,6%, 0,9%, 1,2%, 1,5% dan 0% sebagai kontrol yang merupakan faktor perlakuan pertama, sedangkan faktor perlakuan kedua adalah waktu pengamatan yang dimulai setelah terjadinya kematian pada larva instar III *Aedes aegypti* dan dengan 4 kali pengulangan sehingga didapat 120 satuan percobaan, setiap 1 satuan percobaan menggunakan 20 larva instar III *Aedes aegypti*.

D. Prosedur Penelitian

1. Penyediaan Bahan Uji

Dalam penelitian ini, telur nyamuk *Aedes aegypti* diperoleh dari Loka Penelitian dan Pengembangan (Litbang) Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis. Daun kemangi hutan diambil dari kebun ibu Zaimah Umar di Padang, Sumatera Barat.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi Hutan

Pembuatan ekstrak daun kemangi hutan menggunakan metode yang digunakan oleh Harbone (1987). Daun kemangi hutan segar sebanyak 1000 gram, kemudian dibersihkan dengan air dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7x24 jam. Selanjutnya simplisia daun kemangi hutan yang ada dimaserasi selama 24 jam dengan menggunakan larutan etanol 96%. Setelah selesai maserasi, hasilnya disaring, kemudian maserat yang ada dipekatkan pada suhu 40⁰C-50⁰C di dalam *vacum rotary evaporator* sehingga dihasilkan 100 gram ekstrak pekat daun kemangi hutan dengan konsentrasi 100%.

Kemudian hasil ekstrak yang pekat diencerkan dengan aquades sebanyak lima kali pengenceran dengan masing-masing konsentrasi 0,3%, 0,6%, 0,9%, 1,2%, 1,5% dan 0% sebagai kontrol.

Untuk membuat berbagai konsentrasi yang diperlukan dapat digunakan rumus $V_1M_1=V_2M_2$, dimana: V_1 = volume larutan yang akan diencerkan (ml), M_1 = konsentrasi ekstrak daun kemangi hutan yang tersedia (%), V_2 = volume larutan (air + ekstrak) yang diinginkan (ml), M_2 = konsentrasi ekstrak daun kemangi hutan yang akan dibuat (%). Jumlah volume ekstrak daun kemangi hutan secara terperinci disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Ekstrak Daun Kemangi Hutan yang Dibutuhkan

M_1	V_2	M_2	$V_1 = \frac{V_2M_2}{M_1}$	Pengulangan ($V_1 \times 4$)
100 %	200 ml	0,3 %	0,6 ml	2,4 ml
100 %	200 ml	0,6 %	1,2 ml	4,8 ml
100 %	200 ml	0,9 %	1,8 ml	7,2 ml
100%	200 ml	1,2 %	2,4 ml	9,6 ml
100 %	200 ml	1,5 %	3,0 ml	12,0 ml
			Total	30,0 ml

3. Pengujian Ekstrak Daun Kemangi Hutan

Larva instar III *Aedes aegypti* dimasukkan ke dalam gelas plastik yang telah berisi 200 ml campuran air dan ekstrak daun kemangi hutan dengan masing-masing konsentrasi 0,3%, 0,6%, 0,9%, 1,2%, 1,5% dan 0% sebagai kontrol sebanyak 20 ekor larva dengan 4 kali pengulangan. Menurut WHO (2005) pengamatan dilakukan dengan menghitung larva yang mati pada tiap perlakuan dengan interval waktu 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 480, 1440, 2880, dan 4320 menit atau sampai 72 jam.

4. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan berdasarkan hasil pengamatan visual terhadap perhitungan jumlah larva nyamuk yang mati pada masing-masing konsentrasi ekstrak dengan interval waktu 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 480, 1440, 2880, dan 4320 menit atau sampai 72 jam.

5. Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang mampu membunuh larva instar III *Aedes aegypti*. Jika ada perbedaan pada setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan BNT (Beda Nyata Terkecil).

Kemudian untuk mengetahui nilai LC_{50} dan LC_{90} , serta nilai LT_{50} dan LT_{90} dari ekstrak daun kemangi hutan (*Ocimum sanctum*) yang efektif membunuh larva instar III dari nyamuk *Aedes aegypti* dianalisis menggunakan Uji Probit.