

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Januari 2014. Ekstraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya gelas ukur untuk mengukur jumlah hasil ekstraksi, bejana kaca untuk tempat pembuatan ekstrak, labu ukur untuk pengenceran ekstrak, pengaduk untuk meratakan hasil rendaman, kertas saring untuk memisahkan ekstraksi, *vacuum rotary evaporator* yaitu alat yang berfungsi untuk memekatkan hasil ekstraksi, nampan plastik yang berukuran sama sebagai tempat larva nyamuk, gelas plastik berwarna bening berukuran 500 ml untuk

tempat pengamatan, pipet larva berbahan plastik untuk memindahkan larva, saringan larva, pipet tetes, kertas label, alat tulis, kertas tisu, *counter*, dan stopwatch sebagai alat pencatat waktu pengamatan.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya yang dikering-anginkan dan kemudian dihancurkan sebanyak 300 gram, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebagai larva uji, etanol 96% sebagai pelarut sebanyak 2,5 L, akuades sebagai pengencer ekstrak daun pepaya, dan *dog food* sebagai pakan larva.

C. Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dengan perlakuan tunggal yang menggunakan 6 jenis konsentrasi yaitu 0% sebagai kontrol; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; dan 1% yang ditentukan berdasarkan hasil dari uji pendahuluan, serta dilakukan 4 kali pengulangan.

D. Prosedur Penelitian

Adapun prosedur penelitian dilakukan dengan 2 tahap, yaitu :

1. Tahap Persiapan

a. Preparasi Bahan Uji

Telur nyamuk *Aedes aegypti* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Loka Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis Jawa Barat.

b. *Rearing* Larva

Telur kemudian ditetaskan dalam nampan plastik yang berisi air bersih untuk pemeliharaan larva nyamuk. Telur menetas dalam waktu 2 hari dan setelah menetas diberi makan berupa *dog food*. Dalam waktu kurang lebih 4 hari, larva nyamuk tumbuh mencapai instar III.

c. Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Pembuatan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan metode maserasi dan dengan pelarut berupa etanol 96%. Daun pepaya tua dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan, dan tidak dengan dijemur dibawah terik matahari karena dapat menghilangkan senyawa aktif yang terkandung di dalam daun pepaya. Kemudian daun pepaya kering dihancurkan dengan cara diblender tanpa menggunakan air. Selanjutnya 300 gram cacahan daun pepaya kering direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 L selama 24 jam. Digunakan pelarut etanol dalam penelitian ini

karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga senyawa aktif seperti flavonoid dalam daun pepaya yang juga bersifat polar dapat larut dengan baik. Rendaman tersebut kemudian disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak yang diinginkan. Ekstrak yang sudah disaring kemudian dipekatkan dengan dengan alat *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak daun pepaya dengan konsentrasi 100% (Depkes RI, 1986). Hasil ekstraksi kemudian diencerkan dengan akuades sebanyak enam konsentrasi yaitu 0% sebagai kontrol; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; dan 1% (konsentrasi ditentukan berdasarkan hasil dari uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya).

2. Tahap Penelitian

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; dan 1% dimasukkan ke dalam gelas plastik. Perlakuan menggunakan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diberikan sebanyak 200 ml pada setiap gelas plastik. Kemudian 20 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* diletakkan ke dalam masing-masing gelas plastik yang telah berisi berbagai konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan saringan larva. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga diperoleh 24 satuan percobaan.

E. Pengamatan

Menurut WHO (2005), setiap perlakuan diamati pada 11 interval waktu yaitu pada menit ke-5, ke-10, ke-20, ke-40, ke-60, ke-120, ke-240, ke-480, ke-1440, ke-2880, dan ke-4320 setelah diberi perlakuan dengan menghitung jumlah larva yang mati disetiap interval waktu pengamatan tersebut. Dan jumlah larva yang mati di setiap menitnya dikalkulasikan.

F. Analisis Data

Hasil pengamatan yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan ANOVA, agar dapat mengetahui adanya perbedaan rata-rata kematian larva nyamuk di setiap perlakuan yang diberikan. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) karena ada perbedaan kematian larva nyamuk pada setiap perlakuan.

Dilakukan uji dengan menggunakan analisis Probit untuk mengetahui nilai *Lethal Concentration* (LC_{50} dan LC_{90}) dan *Lethal Time* (LT_{50} dan LT_{90}) dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.).