

## **BAB III BAHAN DAN METODE**

### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2007 bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Balai Tanaman Rempah dan Aromatik Jl. Tentara Pelajar No.3 Bogor 16111.

### **3.2 Bahan dan Alat**

#### **3.2.1 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah: Daun cengkeh (*Syzigium Aromaticum* L.) yang disuling terlebih dahulu, telur nyamuk *Aedes aegypti* strain Liverpool generasi ke-49 yang berasal dari Laboratorium Entomologi Fakultas kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Air rebusan hati ayam, pelet ikan vitamin, air gula, air suling. Bahan-bahan tersebut digunakan untuk pembiakan dan pemeliharaan telur nyamuk *Aedes aegypti*.

#### **3.2.2 Alat**

Alat penelitian yang digunakan adalah: Nampan plastik, gelas plastik, saringan, tempat pemeliharaan nyamuk, kurungan nyamuk panjang 50 cm lebar 35 cm dan tinggi 40 yang terbuat dari kasa nilon berbingkai kawat besi, pada sisi bagian depan terdapat 2 lubang untuk memasukan tangan dan diberi kasa sepanjang lebih kurang 30 cm, pipet, aspirator dan stopwatch, alat penghitung (counter), alat penyulingan minyak astiri, timbangan digital, kaca arloji, penangas air, gelas piala.

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dilakukan diherbarium Bogoriense.

### 3.2.2 Penyulingan Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum L*)

Penyulingan Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum L.*) dilakukan dengan metoda penyulingan dengan uap air/penyulingan secara kukus, yang dilakukan di Balai Tanaman Obat (BALITRO). Pada metode ini bahan yang akan disuling tidak langsung berhubungan dengan air. Bahan baku tanaman cengkeh yang digunakan dipanen dengan cara mengambil daun cengkeh yang sudah tua (Abdurajak, 1985). Daun-daun tersebut dipotong dari tangkainya, kemudian daun-daun yang sudah terkumpul dipisahkan dari pengotor yang mungkin terbawa dan dicuci bersih dengan air yang mengalir lalu ditiriskan, kemudian diangin-anginkan (tidak di bawah sinar matahari langsung) sampai daun cengkeh menjadi layu. Daun cengkeh yang telah layu diletakkan diatas piringan yang dibawahnya telah diisi dengan air yang telah mendidih, uap air akan keluar melalui lubang-lubang piringan dan terus mengalir melalui sela-sela bahan. Bersama uap air ini minyak astiri akan terekstrasi dan ikut terbawa, kemudian uap air dan minyak astiri yang terbentuk disalurkan melalui pipa yang selanjutnya masuk ke lubang pendingin (kondensor), dan akan berkondensasi menjadi air dan minyak. Campuran minyak dan air ini ditampung pada bak pemisah cairan. Karena perbedaan berat jenis maka air dan minyak astiri akan terpisah, air berada dibawah permukaan minyak astiri dan sebaliknya. Selanjutnya minyak astiri yang dihasilkan ditampung dalam botol warna gelap agar tidak teroksidasi.

### 3.3.3 Cara Pemeliharaan dan Pembiakan Nyamuk *Aedes aegypti*

Kurang lebih 200 telur nyamuk *Aedes aegypti* Strain Liverpool generasi ke-49 dimasukkan kedalam nampan plastik yang berisi air, kemudian dидiamkan selama 3 hari diruangan dengan suhu 26-30° C dan kelembaban relatife 60-80%. Setelah 3 hari telur akan menjadi larva. Larva diberi pelet ikan dan hati ayam yang telah direbus, diblender, dan dikeringkan.

Apabila dalam nampan populasi larva terlalu penuh sebagian larva dipindahkan kenampan yang berbeda. Hal tersebut dimaksudkan agar semua larva mendapat oksigen yang cukup dan tidak berebut makanan. Larva akan tumbuh menjadi pupa dalam waktu tujuh sampai sembilan hari. Pupa diambil dengan pipet dan dimasukkan kedalam gelas aqua yang telah diberi air kemudian dimasukan kedalam kurungan nyamuk. Dalam 36 jam pupa akan menetas

menjadi nyamuk. Nyamuk yang baru menetas diberi makanan berupa air gula pasir dengan perbandingan 1:10 (1 gram gula pasir dalam 10ml air suling dan vitamin). Setelah nyamuk mengadakan perkawinan, nyamuk betina akan memerlukan darah untuk proses pematangan telurnya. Pada saat inilah nyamuk *Aedes aegypti* betina siap digunakan sebagai serangga uji yang sebelumnya dipuaskan dulu selama satu hari.

### 3.3.4 Pembuatan Minyak Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.)

Pembuatan minyak cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, 10% dalam virgin coconut oil (VCO).

Minyak cengkeh hasil penyulingan diencerkan dengan VCO untuk menghasilkan konsentrasi 1,25%, 2,5%, 7,5%, 10%. Pembuatan konsentrasi tersebut menggunakan rumus :

$$V1. C1 = V2. C2$$

Untuk mengetahui berapa banyak jumlah minyak cengkeh dan VCO yang ditambahkan dapat dilihat pada tabel dibawah ini

**Tabel 1. Pembuatan Konsentrasi Minyak Cengkeh**

Konsentrasi Minyak Cengkeh	Volume Minyak Cengkeh	Volume VCO	Total Volume
1,25%	0,05 ml	3,95 ml	4ml
2,5 %	0,1 ml	3,9 ml	4ml
5 %	0,2 ml	3,8 ml	4ml
10%	0,4 ml	3,6 ml	4ml

### 3.3.5 Pengujian Efektifitas Minyak Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.)

Metode pengujian didasarkan pada metode standar pengujian efikasi pestisida yang dikeluarkan oleh komisi Pestisida Departemen Pertanian tahun 1995. Nyamuk yang digunakan pada pengujian adalah nyamuk betina yang berumur 3-5 hari.

Pada pengujian digunakan nyamuk sebanyak 25 ekor nyamuk betina, empat kandang Pengujian dan empat orang panelis.

Pengujian ini menggunakan lengan panelis yang dimasukkan kedalam kandang pengujian efektifitas. Lengan yang pertama dimasukkan adalah lengan kanan sebagai kontrol yaitu lengan yang tidak diolesi minyak, hal ini

dimaksudkan agar nyamuk dapat menyesuaikan perilakunya terlebih dahulu. Lengan kanan dimasukkan kedalam kurungan yang telah berisi nyamuk. Banyak nyamuk yang hinggap dihitung, penghitungan yang dilakukan dibatasi oleh usikan. Satu kali usikan dianggap satu kali ulangan, ulangan dilakukan sebanyak 10 kali.

Jarak tiap usikan disamakan yaitu 10 detik. Setelah selesai pengujian lengan kanan dikeluarkan dari kurungan uji, kemudian lengan kiri panelis digunakan untuk lengan perlakuan yaitu lengan yang dioles dengan bahan uji dengan takaran 4 ml mulai dari ujung jari sampai siku. Setelah pengolesan lengan kiri dimasukkan kedalam kurungan nyamuk, penghitungan jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan kiri sama seperti penghitungan nyamuk pada lengan kanan atau kontrol.

### 3.3.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap banyaknya nyamuk yang hinggap pada lengan yang dilakukan setiap jam dimulai pada jam ke-0 (segera setelah pengolesan) sampai jam ke-6 (setelah pengolesan).

Daya proteksi dihitung dengan rumus :

$$\text{Daya proteksi (DP)} = \frac{(K-R)}{K} \times 100 \%$$

Keterangan :

K=Banyaknya hinggap pada lengan kontrol

R=Banyaknya hinggap pada lengan perlakuan

Repellent dianggap efektif apabila hingga jam ke-6 daya proteksinya masih diatas 90%. (Komisi Pestisida Departemen Pertanian, 1995).



Gambar 3. Pengujian Ekstrak Daun Cengkeh

### 3.3.7 Rancangan Penelitian

Untuk mengetahui efektifitas atau daya proteksi minyak cengkeh, digunakan metode Eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 10 kali ulangan. Pengujian data dilakukan berdasarkan analisis ragam untuk RAL. Apabila uji F menunjukkan adanya pengaruh ( $F_{0.05} < F_h < F_{0.01}$ ), maka untuk melihat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut Duncant.

Model linier rancangan acak lengkap :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

- $Y_{ij}$  = Respon terhadap perlakuan ke I pada plot ke j.
- $\mu$  = Rata-rata (nilai tengah ) respon.
- $\tau$  = Pengaruh perlakuan ke i yang akan kita uji.
- $\beta$  = Pengaruh kelompok ke j yang akan kita uji.
- $\epsilon_{ij}$  = Pengaruh faktor random yang mendapat perlakuan ke i dengan ulangan ke j.

**Tabel 2. Kaidah Keputusan**

<b>Hasil Analisis</b>	<b>Kesimpulan Analisis</b>	<b>Kesimpulan Penelitian</b>
$F_h < F_{.05}$	(Non Significant)	Terima $H_0$ (tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan)
$F_{.05} < F_h < F_{.01}$	Nyata (Significant)	Tolak $H_0$ (ada perbedaan pengaruh antar perlakuan)
$F_h > F_{.01}$	Sangat Nyata (Highly Significant)	Tolak $H_0$ (ada perbedaan sangat nyata antar perlakuan)

Sumber : Matjik dan Sumartejaya, 2000