

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Sesuai dengan tujuan penelitian ini, jenis penelitian yang digunakan adalah metode penelitian yang bersifat eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari seduhan daun bidara (*Ziziphus mauritiana*).

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu mulai dari determinasi tanaman, pengumpulan bahan, sortasi basah dan sortasi kering pada daun bidara, skrining fitokimia, penyiapan bahan uji, penetasan larva *Artemia salina* Leach selama 48 jam dan pelaksanaan uji dengan BSLT dan penentuan analisa data nilai LC₅₀.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seduhan daun bidara, sedangkan untuk sampel penelitian ini adalah sebagian seduhan daun bidara.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

3.4 Definisi Operasional Penelitian

Variabel penelitian merupakan sesuatu yang terbentuk dari apa saja yang telah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga didapatkan informasi tentang suatu hal tersebut dan dapat ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2013).

Variabel pada penelitian ini adalah variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi seduhan daun bidara dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kematian larva udang.

Tabel 3.4. Definisi Operasional Penelitian

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
1	Persentase mortalitas larva udang <i>Artemia</i>	Hasil perhitungan total larva yang mati dibagi dengan jumlah larva awal dikali 100% untuk setiap replikasi	Jumlah larva mati dibagi jumlah larva awal dikali 100%	Numerik	Persentase kematian larva

2	LC ₅₀	Konsentrasi suatu zat yang diberikan selama 24 jam pada hewan coba yang dapat membunuh 50% hewan coba tersebut	Ditentukan melalui persamaan garis lurus $y=a+bx$ dengan memasukkan nilai probit dari 50% kematian hewan coba sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi dan antilog sebagai nilai LC ₅₀	Nominal	LC ₅₀ kurang dari 1000 ppm termasuk senyawa toksik. Nilai LC ₅₀ lebih dari 1000 ppm termasuk senyawa tidak toksik.
---	------------------	--	--	---------	--

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang akan diuji adalah daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang didapatkan dari kebun rumah warga Desa Sumenep Kabupaten Madura, Jawa Timur yang akan dibuat seduhan dengan menggunakan air.

Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah neraca analitik, tabung reaksi, corong kaca, panci, kompor, pipet tetes, batang pengaduk, termometer, vial 100mL, *beaker glass*, alat penetas udang (wadah, plastik, lakban hitam, sterofoam, aluminium foil dan lampu), air laut, air mineral, daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) dan Larva udang *Artemia salina* Leach.

3.6 Cara Kerja Penelitian

3.6.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi atau identifikasi dilakukan di UPT Laboratorium Herbal *Materia Medica Batu* (MMB).

3.6.2 Persiapan dan Pembuatan Seduhan

Daun bidara yang didapatkan dari kebun rumah warga Desa Sumenep Kabupaten Madura, Jawa Timur

1. Dilakukan determinasi untuk mengetahui spesiesnya.
2. Daun bidara diambil sebanyak 3 gram, disortir dan dibersihkan.
3. Daun bidara yang telah dibersihkan dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Farmakologi untuk dijadikan sebagai seduhan.

3.6.3 Pembuatan Seduhan Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*)

1. Diambil daun bidara sebanyak 3 gram daun pada batang yang masih segar dan dalam keadaan utuh tidak sobek.
2. Dilakukan sortasi basah pada daun bidara.
3. Setelah bersih daun bidara segar dirajang kecil-kecil kemudian diseduh dengan air mendidih sebanyak 200 ml dengan suhu 100°C selama 5 menit sambil diaduk agar kandungan dalam daun dapat larut dalam air.
4. Setelah itu air seduhan dipisahkan dari ampasnya dengan cara disaring.

3.6.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin yang terdapat pada daun bidara dengan metode pereaksi.

3.6.5 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach (Juniartini, 2009)

1. Penetasan larva udang dilakukan didalam *beaker glass*.
2. *Beaker glass* diisi dengan air laut sebanyak kurang lebih 1,5 liter air laut.
3. Dimasukkan telur *Artemia salina* Leach kedalam *beaker glass* yang telah diisi dengan air laut sebanyak 1 sendok tanduk (kecil).

4. Diberi penerangan menggunakan cahaya lampu untuk merangsang penetasan di samping *beaker glass*.
5. *Beaker glass* yang telah berisi air laut dan telur *Artemia salina* Leach diberi aerator untuk memberikan oksigen pada telur yang menetas menjadi larva yang berusia 48 jam.
6. Larva yang berusia 48 jam dapat dijadikan sebagai hewan uji dalam percobaan BSLT.

3.6.5 Persiapan Larutan Induk

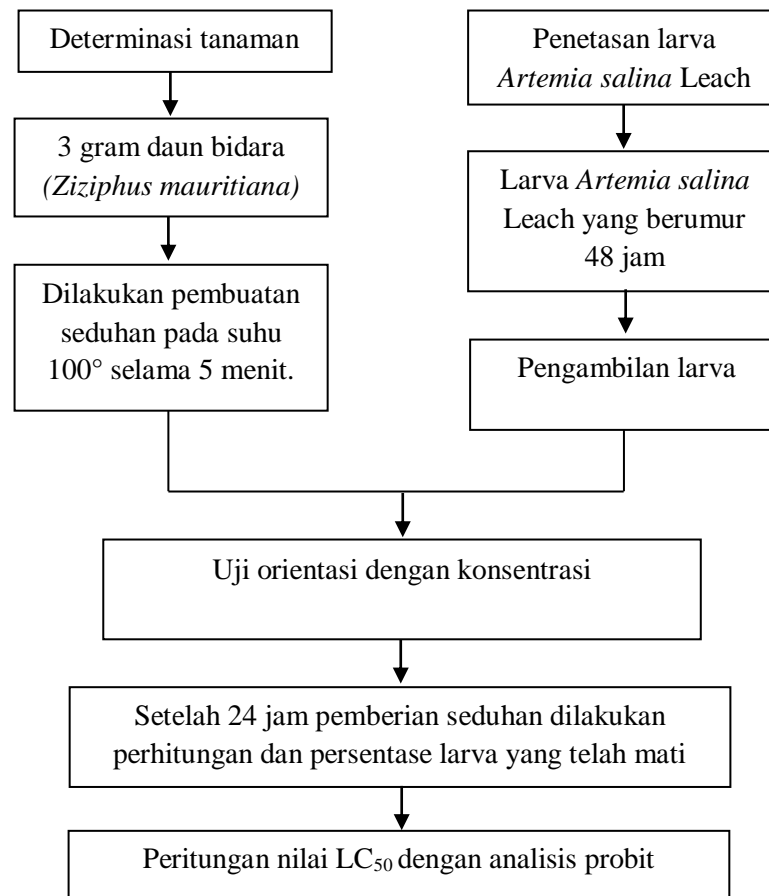
Larutan induk diambil dari hasil seduhan daun bidara sebanyak 200 ml. Selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi 15 ppm, 180 ppm, 300 ppm dan 600 ppm dengan cara pengenceran.

3.6.6 Prosedur Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Disiapkan 4 tabung reaksi kemudian tabung reaksi di isi dengan 5 ml larutan induk dari masing-masing konsentrasi yaitu 15 ppm, 180 ppm, 300 ppm dan 600 ppm. Selanjutnya setiap tabung yang sudah berisi seduhan daun bidara ditambahkan air laut hingga 10 ml, kemudian dimasukkan larva *Artemia salina* sebanyak 10 ekor pada masing-masing tabung.

Pada setiap tabung reaksi diinkubasi dalam suhu kamar selama 24 jam dibawah penerangan lampu. Perhitungan data dilakukan dengan melihat larva udang yang mati setelah diberikan perlakuan selama 24 jam pada setiap konsentrasi. Cara menghitung larva udang yang mati dilakukan dengan cara manual yaitu memindahkan larva dari tabung reaksi kedalam kaca arloji menggunakan pipet dan dengan bantuan penglihatan mata dibawah penyinaran lampu agar larva udang yang mati bisa terlihat dengan jelas.

3.7 Alur Penelitian



3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang dihasilkan dengan cara menghitung angka mortalitas *Artemia salina* Leach yang mati setelah diberi perlakuan. Angka mortalitas dihitung dengan LC_{50} dengan memasukkan nilai probit (50% kematian larva *Artemia salina* Leach).

Angka mortalitas dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Presentasi kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100\%$$