

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di dua tempat yang berbeda, yaitu:

1. Tempat pengambilan sampel dan preparasi sampel dilakukan di desa Sembung Harjo Genuk Semarang
2. Tempat Penelitian untuk ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Pendidikan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang dan Laboratorium Teknologi Pangan UNIKA Soegiopranoto Semarang

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Agustus 2016.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu diantaranya: Gelas ukur, Gelas Beker, Tabung reaksi, Pipet ukur, Mikro pipet 10–1000 μL , Corong kaca, Corong pemisah, Batang pengaduk, Labu ukur, Termometer, Blender Panasonic, Aluminium foil, Timbangan teknis, Aquarium untuk penetasan telur udang, Lampu philips dan vial untuk BSLT, Vortex, Oven, dan *Freeze Dryer* Heto POWER Dry LL1500

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Daun jambu air (*Syzygium samarangense*) (BL.) Merrill & Perry variates Deli Hijau, Air laut buatan dengan kadar garam

20%, Telur udang (*Artemia salina* Leach), Air aquades, N-heksana teknis, Etil asetat teknis, dan Metanol teknis.

C. Metodologi Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah dengan uji bioaktivitas BSLT, Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu:

1. Preparasi Sampel

Sebanyak 1500 gram daun jambu air segar dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama 7 hari di tempat yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung, setelah daunnya kering, ditimbang lalu di blender hingga menjadi serbuk halus dan didapat 417,46 g daun serbuk kering. Serbuk daun jambu air kering dimaserasi dengan n-heksana sebanyak 3 L selama 24 jam dan hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, perendaman dilakukan 2x sampai filtrat mendekati jernih dan residu dari hasil maserasi dari n-heksana di angin-anginkan hingga n-heksana menguap semuanya, kemudian residu kering di maserasi dengan etil asetat sebanyak 3 L selama 24 jam dan hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, perendaman dilakukan 2x sampai filtrat mendekati jernih dan residu dari hasil etil asetat di angin-anginkan sampai etil asetat menguap seluruhnya, lalu residu kering dimaserasi dengan metanol sebanyak 3 L selama 24 jam dan hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, perendaman dilakukan 2x sampai filtrat

mendekati jernih dan residu dari hasil metanol di angin-anginkan hingga metanol menguap seluruhnya lalu residu kering dimaserasi dengan air sebanyak 3 L selama 24 jam dan hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, perendaman dilakukan 2x sampai filtrat mendekati jernih. Kemudian diambil 1 L filtrat dari ekstraksi air dipekatkan dengan *freeze dryer* sehingga dihasilkan ekstrak kasar dan dikentalkan dengan oven pada suhu 50°C kemudian ditimbang dan dihasilkan 8 gram ekstrak kasarnya (Ayyida, 2014).

2. Uji Potensi Antikanker

Uji bioaktivitas antikanker dengan metode BLST pertama Metode (*Meyer et al 1982*). digunakan untuk mempelajari toksisitas sampel secara umum dengan menggunakan telur udang (*Artemia salina Leach*) (Juniarti, 2009).

a. Penetasan larva udang

Penyiapan larva dilakukan dengan diambil telur *Artemia salina Leach* sebanyak 1,5 gram dan ditetaskan dengan cara direndam telur tersebut dalam air laut buatan 20% sebanyak 2 L dan diterangi dengan lampu serta diaerasi dengan aerator selama 48 jam larva siap untuk uji BSLT. Air laut buatan dibuat dengan cara dilarutkan 40 g garam dalam 2 L air kemudian disaring sehingga didapat konsentrasi 20% (Juniarti, 2009).

b. Uji potensi antikanker dengan metode BSLT

Sampel yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 0,1, 1, 10, 100, dan 1000 ppm, dimana 0,1 ppm dan 1000 ppm merupakan konsentrasi menunjukkan bersifat toksik pada suatu ekstrak dan rentangan 1, 10, 100 merupakan kelipatan dari log untuk mempermudah perhitungan. lalu diambil 5 ml dimasukan ke tabung reaksi yang diisikan air laut buatan 20% Sebanyak 5 ml air laut buatan yang mengandung larva udang 10 ekor diaduk sampai homogen dan dibiarkan selama 24 jam, tiap konsentrasi dilakukan uji sebanyak 3x, untuk kontrol tanpa ditambah sampel dan dihitung jumlah larva yang mati dan yang hidup pada tiap-tiap tabung reaksi (Juniarti, 2009).

D. Teknik Analisa Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang dihasilkan dengan menghitung persentase kematian larva pada tiap konsentrasi, bisa dilihat pada tabel 3.2, selanjutnya nilai LC_{50} nya dengan analisis Reed-Muench.

Tabel 3.2 lembar kerja eksperimen uji BSLT dengan analisis Reed-Muench.

Kelas	Konsentrasi ppm	hidup	Mati	Σ mati	Σ hidup	Total	% kematian	LC ₅₀
Ekstrak daun jambu air	0,1							
	1							
	10							
	100							
	1000							

kemudian dihitung ukuran jarak $(h) = (50\% - a) / (b - a)$

$h = 50\% - a / (b - a)$

a : % yang menyebabkan kematian lebih kecil dari 50 %

b : % yang menyebabkan kematian lebih besar dari 50 %

lalu hitung log kenaikan dosis (I)

$(I) = \log \text{kematian di atas } 50\% / \text{kematian di bawah } 50\%$

Lalu mencari nilai $(g) = h \times I$

$(g) = (h)$ hasil kali dari ukuran jarak $\times (I)$ log kenaikan dosis

Kemudian mencari nilai $(y) = g + \log \text{kematian lebih kecil dari } 50\%$,

kemudian dapat ditentukan bahwa nilai $LC_{50} = \text{anti log } y$