



**PERBEDAAN TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI PELARUT ETANOL
TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Oleh

**Tantri Yosica Restu
NIM 110210103017**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PERBEDAAN TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI PELARUT ETANOL
TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar
Sarjana Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

**Tantri Yosica Restu
NIM 110210103017**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut asma Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang serta Nabi Muhammad SAW junjungan seluruh umat manusia, aku persembahkan skripsi ini dengan segenap cinta kasih kepada:

1. Bapakku Sumedi dan ibuku Sri Wahyuni atas segala dukungan, kasih sayang dan doa yang tiada henti, serta pengorbanan kalian yang tak pernah terganti demi kesuksesanku.
2. Kakakku Rista Eka Wahyu dan Rinda Media Ningtyas atas bantuan, nasehat, dan sumber motivasinya.
3. Segenap dosen Pendidikan Biologi Universitas Negeri Jember yang telah memberikan ilmu dan mencurahkan waktunya, terima kasih atas semua pengabdianya.
4. Para guru – guru yang telah memberikan ilmu, mendidik, membimbing dengan penuh ikhlas dan kesabaran.
5. Sahabatku Ike Nurjannah, Alfiliya Fauziyah dan Naradia Widastuti atas semangat dan kebersamaan yang telah kalian berikan sehingga aku tidak pernah sendiri.
6. Teman-teman Pendidikan Biologi 2011 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih telah berbagi keceriaan dan melewati setiap suka dan duka selama perkuliahan
7. Almamater Universitas Negeri Jember.

MOTTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(Terjemahan Surat Al-Baqarah Ayat 216)*

“Jenius adalah 1% inspirasi dan 99% keringat. Tidak ada yang dapat menggantikan kerja keras. Keberuntungan adalah sesuatu yang terjadi ketika kesempatan bertemu dengan kesiapan”

(Thomas A. Edison)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. Al Qur'an dan Terjemahan. Bandung: CV.Penerbit Diponegoro

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Tantri Yosica Restu

NIM : 110210103017

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Desember 2015

Yang menyatakan,

Tantri Yosica Restu
NIM 110210103017

SKRIPSI

**PERBEDAAN TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI PELARUT ETANOL
TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.**

Oleh

Tantri Yosica Restu
NIM 110210103017

Pembimbing

Pembimbing Utama : Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes
Pembimbing Anggota : Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “ Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember pada:

hari : Kamis

tanggal : 17 Desember 2015

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes

NIP. 19600309 198702 2 002

Prof. Dr. H. Joko Waluyo , M.Si

NIP. 19571028 198503 1 001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Jekti Prihatin, M.Si.

NIP. 19651009 199103 2 001

Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd

NIP. 19870526 201212 1 002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.

NIP. 19540501 198303 1 005

PERSETUJUAN

**PERBEDAAN TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI PELARUT ETANOL
TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

Nama Mahasiswa : Tantri Yosica Restu
NIM : 110210103017
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2011
Tempat/ Tanggal Lahir : Bondowoso, 14 April 1993

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes
NIP. 19600309 198702 2 002

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si
NIP. 19571028 198503 1 001

RINGKASAN

Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.; Tantri Yosica Restu, 110210103017, 2015; 105 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor utama. Upaya penanggulangan DBD di Indonesia hingga saat ini belum optimal karena jumlah kasus cenderung meningkat setiap tahunnya. Penggunaan insektisida sintetik (kimia) dikenal sangat efektif, relatif murah, mudah dan praktis tetapi berdampak negatif terhadap lingkungan hidup. Sehubungan dengan hal di atas maka perlu dilakukan usaha untuk membasmi larva dengan diadakan alternatif baru yaitu insektisida nabati (bioinsektisida) salah satunya yaitu daun sirih yang termasuk dalam Famili *Piperaceae* (sirih-sirihan) yang mengandung minyak atsiri dan senyawa alkaloid. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berbagai konsentrasi etanol. Pada umumnya etanol adalah pelarut yang sering digunakan karena memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan besar toksisitas LC_{50} , LC_{90} dan LT_{50} , LT_{90} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol (50%, 70%, 96%, dan PA) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium dengan waktu pemaparan 24 jam dan 48 jam, serta untuk mengetahui kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi, FKIP Universitas Jember dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Dalam penelitian dilakukan 3 kali pengulangan dengan jumlah larva 20 ekor. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. diperoleh dari *Laboratorium Entomologi Institute of Tropical*

Disease UNAIR. Data yang diperoleh diuji menggunakan SPSS statistics 17.0 dan Analisis Probit.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa besar LC_{50} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 50% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 13389,0 ppm dan 2167,71 ppm. Besar LC_{50} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 70% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 13370,6ppm dan 1531,12 ppm. Besar besar LC_{50} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 96% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 697,23 ppm dan 476,13 ppm. Besar besar LC_{50} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol PA pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 288,58 ppm dan 149,06 ppm. Sedangkan besar LC_{90} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 50% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 38486,7 ppm dan 5697,23 ppm. Besar LC_{90} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 70% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 59439,9 ppm dan 3821,08 ppm. Besar LC_{90} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 96% pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 1699,43 ppm dan 1233,74 ppm. Besar LC_{90} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol PA pada waktu dedah 24 dan 48 jam berturut – turut yaitu 730,39 ppm dan 455,61ppm. Besarnya *Lethal Time* (LT_{50} dan LT_{90}) tercepat dari semua jenis pelarut yaitu pelarut PA dengan konsentrasi tertinggi (1200 ppm) LT_{50} sebesar 2,18 jam dan LT_{90} sebesar 7,73 jam.

Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), maka semakin tinggi mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Hendaknya sebelum digunakan masyarakat, dilakukan penelitian untuk mengurangi tingkat kekeruhan pada air setelah pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) agar bisa diaplikasikan secara maksimal dan dilakukan pembuatan granul agar lebih praktis dan tahan lebih lama tanpa mengurangi toksisitas senyawa yang terkandung dalam daun sirih.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

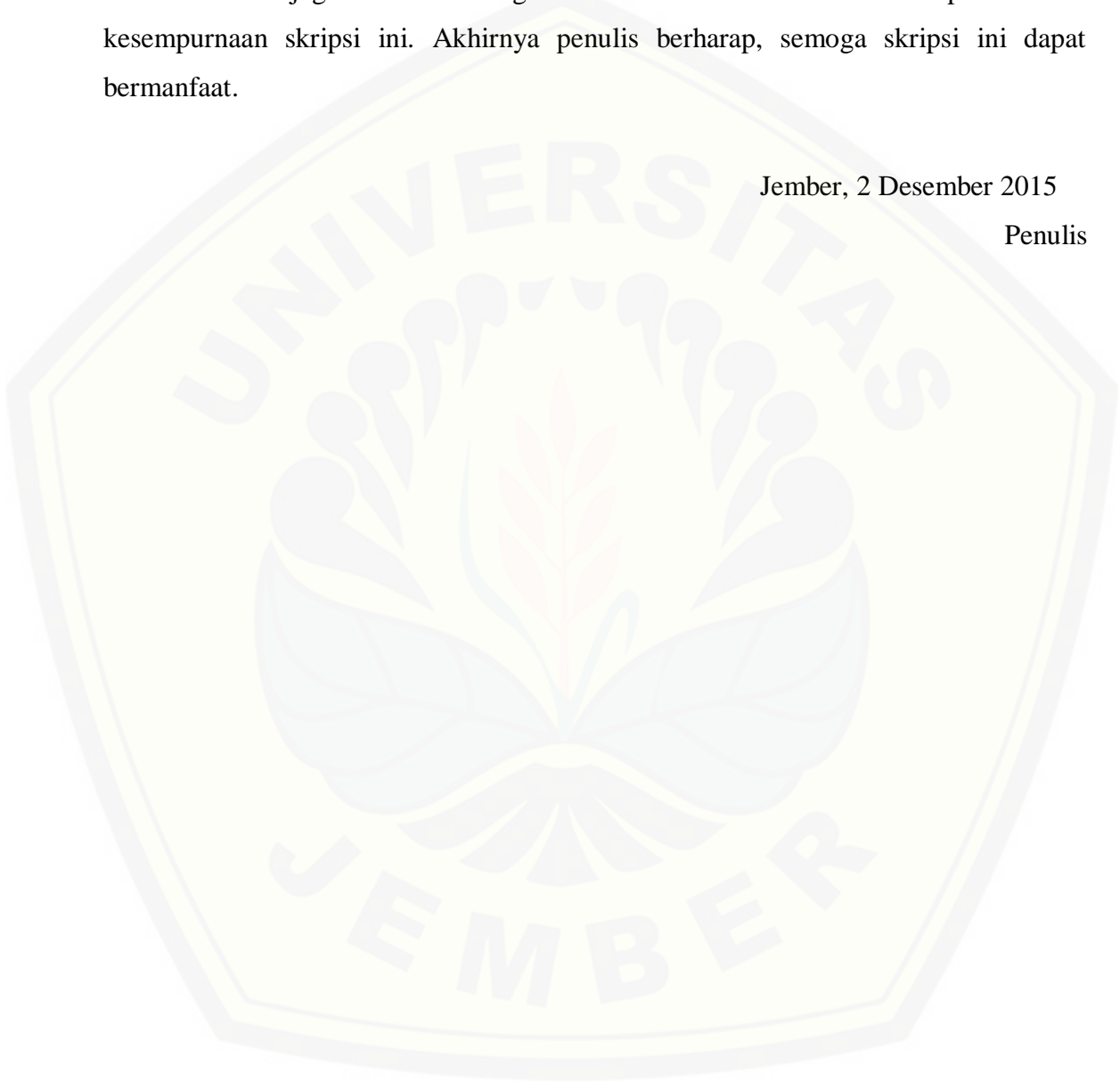
1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Ibu Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes, selaku ketua Jurusan Pendidikan MIPA;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku ketua Program Studi Pendidikan Biologi;
4. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing I, dan Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si, selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Dra. Pujiastuti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Bapak dan Ibu beserta kedua kakakku yang telah mendoakanku dan memberi motivasi sehingga aku bisa melangkah seperti saat ini;
7. Sahabat-sahabat tercintaku, Ike Nurjannah, Alfiliya Fauziyah, Naradia Widastuti yang setia menemaniku dalam suka maupun duka;
8. Teman-teman Pendidikan Biologi 2011 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih atas dukungan dan kebersamaan selama mengikuti masa perkuliahan;

9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 2 Desember 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
HALAMAN PERSETUJUAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Sirih	8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	8
2.1.2 Morfologi Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	9
2.1.3 Jenis – jenis Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	10
2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	10

2.1.5 Khasiat dan Kegunaan Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	11
2.2 Ekstraksi	12
2.3 Pelarut Etanol	17
2.4 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	18
2.4.1 Sistematika Taksonomi <i>Aedes aegypti</i> L.	19
2.4.2 Habitat <i>Aedes aegypti</i> L.	19
2.4.3 Morfologi <i>Aedes aegypti</i> L.	20
2.4.4 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L.	25
2.4.5 Perilaku Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	26
2.5 Perbedaan Telur, Larva, Pupa dan Dewasa pada Nyamuk <i>Aedes, Anopheles, dan Culex.</i>	27
2.6 Faktor Lingkungan Fisik yang Mempengaruhi Kehidupan Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	29
2.7 Insektisida	31
2.7.1 Jenis Insektisida	31
2.7.2 Penggolongan Insektisida	32
2.8 Toksisitas Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	33
BAB 3. METODE PENELITIAN	35
3.1 Jenis Penelitian	35
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	35
3.2.1 Tempat Penelitian	35
3.2.2 Waktu Penelitian.....	35
3.3 Variabel Penelitian	35
3.3.1 Variabel Bebas	35
3.3.2 Variabel Terikat	36
3.3.3 Variabel Kontrol	36
3.4 Alat dan Bahan	36
3.4.1 Alat.....	36

3.4.2 Bahan	36
3.5 Definisi Operasional.....	37
3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel	38
3.7 Desain Penelitian.....	38
3.7.1 Persiapan Larva Uji.....	38
3.7.2 Pembuatan Serial Konsentrasi Pelarut Etanol Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>)	39
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) Dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol.....	40
3.7.4 Uji Pendahuluan	41
3.7.5 Uji Akhir	42
3.8 Parameter Yang Diamati	46
3.9 Analisis Data	46
3.10 Alur Penelitian	48
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Hasil Pengamatan	49
4.1.1 Identifikasi Morfologi Telur dan Larva <i>Aedes aegypti L.</i>	49
4.1.2 Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol	51
4.1.3 Morfologi Serangga Uji <i>Aedes aegypti L.</i> Sebelum dan Setelah diberi Perlakuan	53
4.1.4 Hasil Pengujian Pendahuluan	56
4.1.5 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) Dengan Pelarut Etanol 50% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti L.</i>	59

4.1.6 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	65
4.1.7 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	71
4.1.8 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	76
4.1.9 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Berbagai Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	82
4.1.10 Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Pada Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol	83
4.1.11 Pengaruh Kontrol Faktor Lingkungan Penelitian terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	84
4.2 Pembahasan	86
4.2.1 Identifikasi Morfologi Telur <i>Aedes aegypti</i> L.	87
4.2.2. Identifikasi Morfologi Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	87
4.2.3 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	88
4.2.4 Gejala Keracunan Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Akibat Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Konsentrasi Pelarut Etanol	90

4.2.5	Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Pada Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol.....	93
4.2.6	Pengaruh Faktor Lingkungan Penelitian terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	94
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	95
5.1	Kesimpulan	95
5.2	Saran	96
DAFTAR PUSTAKA	97

DAFTAR TABEL

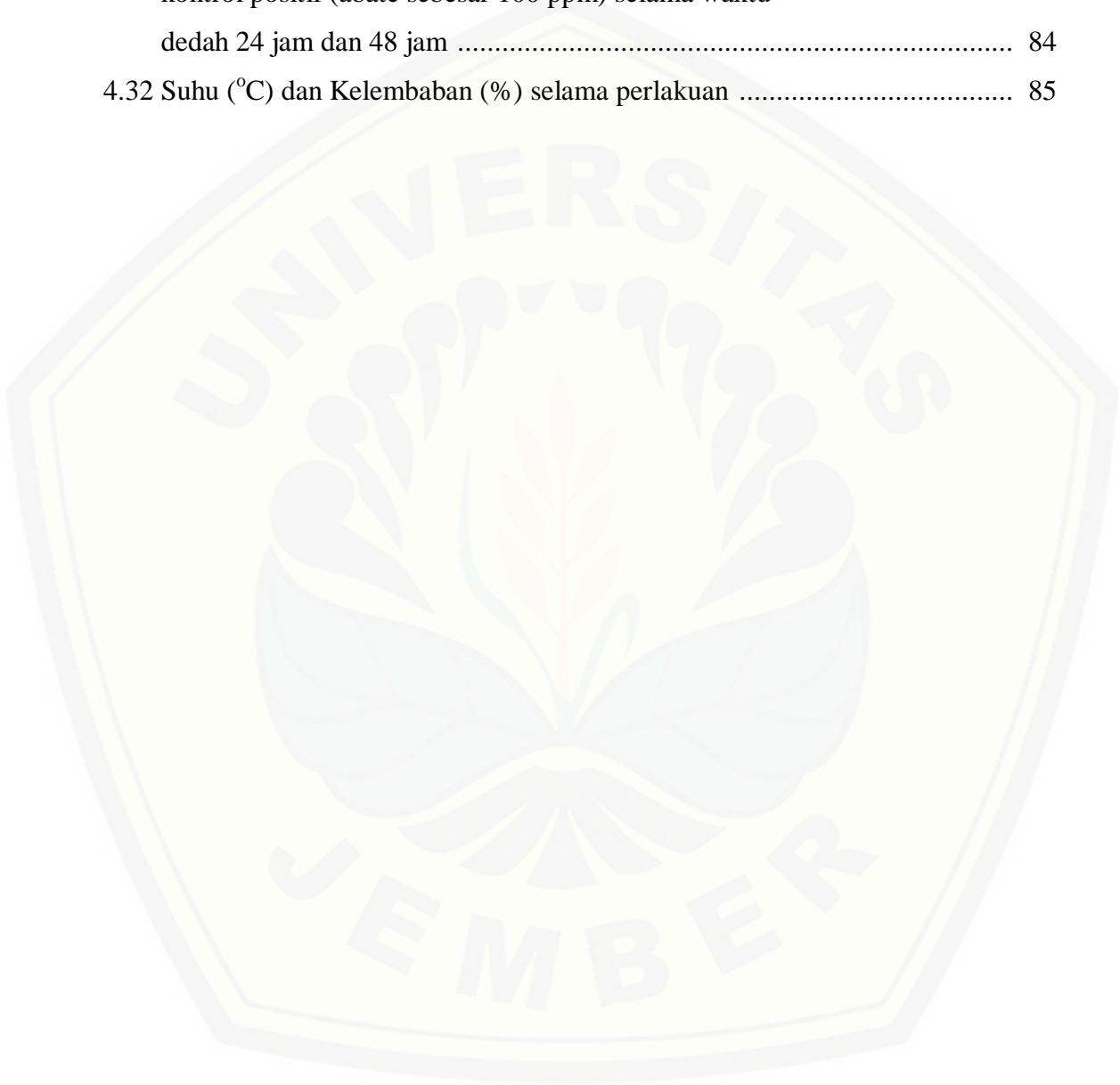
	Halaman
2.1 Perbandingan ekstraksi soxhlet dengan ekstraksi ultrasonik	16
3.1 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 50%	44
3.2 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 70%	44
3.3 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 96%	45
3.4 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol PA	45
4.1 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50 % Pada Waktu Dedah 24 Jam dan 48 Jam	56
4.2 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70 % Pada Waktu Dedah 24 Jam dan 48 Jam	57
4.3 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96 % Pada Waktu Dedah 24 Jam dan 48 Jam	58
4.4 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA (Pro Analisis) Pada Waktu Dedah 24 Jam dan 48 Jam	58
4.5 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50 % Pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam	59

4.6	Analisis Probit Nilai LC_{50} dan LC_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 50% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	62
4.7	Analisis Probit Nilai LT_{50} dan LT_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 50% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	62
4.8	Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50% Pada Perlakuan 24 Jam	63
4.9	Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50% Pada Perlakuan 48 Jam	64
4.10	Rata – rata Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50% pada perlakuan 24 jam dan 48 Jam Menggunakan Uji Duncan	64
4.11	Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70 % Pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam	65
4.12	Analisis Probit Nilai LC_{50} dan LC_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 70% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	68
4.13	Analisis Probit Nilai LT_{50} dan LT_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 70% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	68
4.14	Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70% Pada Perlakuan 24 Jam	69

4.15 Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70% Pada Perlakuan 48 Jam	70
4.16 Rata – rata Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70% pada perlakuan 24 jam dan 48 Jam Menggunakan Uji Duncan	70
4.17 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96 % Pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam	71
4.18 Analisis Probit Nilai LC_{50} dan LC_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 96% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	74
4.19 Analisis Probit Nilai LT_{50} dan LT_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol 96% terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	74
4.20 Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96% Pada Perlakuan 24 Jam	75
4.21 Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96% Pada Perlakuan 48 Jam	75
4.22 Rata – rata Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96% pada perlakuan 24 jam dan 48 Jam Menggunakan Uji Duncan	76

4.23	Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA Pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam	77
4.24	Analisis Probit Nilai LC ₅₀ dan LC ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol PA terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	79
4.25	Analisis Probit Nilai LT ₅₀ dan LT ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etanol PA terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	80
4.26	Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA Pada Perlakuan 24 Jam	80
4.27	Analisis Varian (ANOVA) Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA Pada Perlakuan 48 Jam	81
4.28	Rata – rata Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Yang Diperlakukan Dengan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA pada perlakuan 24 jam dan 48 Jam Menggunakan Uji Duncan	81
4.29	Perbedaan Toksisitas Nilai LC ₅₀ dan LC ₉₀ Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	82
4.30	Perbedaan Toksisitas Nilai LT ₅₀ dan LT ₉₀ Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	83

4.31 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. yang diperlakukan dengan kontrol negatif (tween 80 sebesar 0 ppm) dan kontrol positif (abate sebesar 100 ppm) selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam	84
4.32 Suhu (°C) dan Kelembaban (%) selama perlakuan	85



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi Tumbuhan Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	9
2.2 Telur Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	20
2.3 Larva <i>Aedes aegypti</i> L. instar III akhir Sampai IV awal	23
2.4 Pupa <i>Aedes aegypti</i> L.	24
2.5 Nyamuk Dewasa <i>Aedes aegypti</i> L.	25
2.6 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L.	26
2.7 Perbedaan Telur, Larva, Pupa, Imago <i>Anopheles</i> , <i>Aedes</i> , dan <i>Culex</i>	29
4.1 Telur Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	49
4.2 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Instar III akhir – IV awal	50
4.3 Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut	51
4.4 Hasil Uji <i>Kromatografi Lapis Tipis</i> (KLT) Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Berbagai Konsentrasi Pelarut	52
4.5 Perbandingan Antara Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Sebelum dan Setelah Diberi Perlakuan Secara Makroskopis	53
4.6 Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Secara Mikroskopis	54
4.7 Perbandingan Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Masing – masing Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol	55
4.8 Histogram Presentase Rerata Mortalitas (%) Larva Uji Dari Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 50% Pada Waktu Dedah 24 Jam Dan 48 Jam	61

4.9	Histogram Presentase Rerata Mortalitas (%) Larva Uji Dari Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 70% Pada Waktu Dedah 24 Jam Dan 48 Jam	67
4.10	Histogram Presentase Rerata Mortalitas (%) Larva Uji Dari Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol 96% Pada Waktu Dedah 24 Jam Dan 48 Jam	72
4.11	Histogram Presentase Rerata Mortalitas (%) Larva Uji Dari Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Dengan Pelarut Etanol PA (Pro Analisis) Pada Waktu Dedah 24 Jam Dan 48 Jam	78
4.12	Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) Pada Berbagai Konsentrasi Pelarut	84

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian	106
B. Hasil Pengamatan Uji Pendahuluan	109
C. Hasil Pengamatan Uji Akhir	110
D. Foto Alat dan Bahan serta Kegiatan Penelitian	118
E. Analisis Varian (ANOVA) dan Uji Duncan Toksisitas ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	123
F. Analisis Probit Untuk LC ₅₀ dan LC ₉₀ dan Toksisitas ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	137
G. Analisis Probit Untuk LT ₅₀ dan LT ₉₀ dan Toksisitas ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	160
H. Surat – Surat	220

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu penyakit yang ditimbulkan oleh gigitan nyamuk adalah Demam Berdarah Dengue (DBD). Menurut Kementerian Kesehatan mengatakan bahwa Indonesia masih menjadi sarang kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) dan merupakan salah satu jenis penyakit yang menimbulkan kematian yang cukup besar tiap tahunnya. Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor utama (Hadinegoro & Satari, 2002). Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama di Indonesia. Jumlah penderita dan luas daerah penyebarannya semakin bertambah seiring dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk.

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2015), penderita DBD sampai pertengahan bulan Desember 2014 di 34 Provinsi di Indonesia sebanyak 71.668 orang dan 641 diantaranya meninggal dunia. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa upaya penanggulangan DBD di Indonesia hingga saat ini belum optimal karena jumlah kasus cenderung meningkat setiap tahunnya. Upaya pemerintah yang telah dilakukan untuk membasmi nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah dengan cara *fogging*, gerakan 3M (Menguras, Menutup, dan Mengubur). *Fogging* adalah salah satu cara memberantas nyamuk dengan menggunakan pengasapan, namun cara tersebut belum efektif karena hanya bersifat sesaat dan hanya bisa mematikan nyamuk pada saat *fogging* dilakukan sehingga jentik nyamuk tidak dapat diberantas padahal dari jentik itulah nyamuk dewasa akan berkembang. Untuk pemberantasan selanjutnya yaitu dengan gerakan 3M, namun upaya tersebut kurang diminati oleh masyarakat karena membutuhkan waktu yang banyak dan kepedulian yang tinggi (Depkes RI, 2005).

Penggunaan insektisida sintetik (kimia) dikenal sangat efektif, relatif murah, mudah dan praktis tetapi berdampak negatif terhadap lingkungan hidup. Namun penggunaan insektisida yang berlebihan tidak dianjurkan, karena sifatnya yang tidak spesifik sehingga akan membunuh berbagai jenis serangga lain yang bermanfaat secara ekologis (Etikawati, 2009).

Dampak negatif tersebut diantaranya adalah kematian musuh alami dari organisme pengganggu, kematian organisme yang menguntungkan, mengganggu kualitas dan keseimbangan lingkungan hidup akibat adanya residu serta timbulnya resistensi pada hewan sasaran (Novizan, 2002). Penggunaan insektisida tidak hanya mampu mengusir dan membunuh nyamuk, tetapi dapat juga mengusir dan membunuh serangga-serangga yang lain.

Banyaknya dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia memunculkan penelitian baru dalam pengendalian vektor yang lebih aman, sederhana, dan berwawasan lingkungan. Pengendalian menggunakan insektisida nabati (bioinsektisida) dari ekstrak tumbuhan adalah salah satunya. Menurut Krisdiyanta, dkk (2004) bahan insektisida yang baik untuk dikembangkan adalah insektisida hayati yang berasal dari tumbuhan-tumbuhan atau insektisida botani. Kelebihan dari insektisida botani antara lain mudah cara membuatnya, bahan yang digunakan relatif lebih murah, mudah terdegradasi sehingga lebih aman terhadap manusia dan ternak, bersifat spesifik sehingga tidak membunuh musuh alami dan makhluk bukan sasaran. Insektisida botani adalah salah satu alternatif yang layak untuk dikembangkan karena senyawa insektisida dari tumbuhan tersebut mudah terurai dengan lingkungan. Famili tumbuhan yang dianggap merupakan sumber potensial insektisida nabati adalah *Meliaceae*, *Annonaceae*, *Astraceae*, *Piperaceae* dan *Rutaceae* (Kardinan, 2002).

Daun sirih (*Piper betle* L.) termasuk dalam famili *piperaceae* (sirih-sirihan) yang mengandung minyak atsiri dan senyawa alkaloid (Nugroho, 2003). Senyawa-senyawa seperti sianida, saponin, tanin, flavonoid, steroid, alkanoid dan minyak atsiri diduga dapat berfungsi sebagai insektisida (Aminah, 1995).

Jenis pelarut merupakan faktor utama dalam keberhasilan suatu ekstraksi. Jenis pelarut pengestraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti, 2014). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol. Pada umumnya etanol adalah pelarut yang sering digunakan karena memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Etanol memiliki titik didih yang rendah dan cenderung aman (Paturau, 1982). Sedangkan menurut Cowan (1999), pelarut etanol dapat digunakan untuk mengikat berbagai senyawa aktif, seperti tanin, polifenol, flavonol, terpenoid, sterol, dan alkaloid.

Beberapa hasil penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk membuktikan penggunaan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai insektisida. Handayani (2014) menggunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai bioinsektisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sirih efektif membunuh larva mulai pada konsentrasi 1000 ppm dengan lama kontak selama 45 menit. Selain itu Aulung, dkk (2010) menggunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol 96% sebagai daya larvisida terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* yang menunjukkan hasil konsentrasi untuk mematikan separuh larva uji (LC.50) adalah 0,046 % dan konsentrasi untuk mematikan 90% populasi larva uji (LC.90) adalah 0,1031% ekstrak daun sirih setelah 24 jam waktu pengamatan.

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, pada penelitian ini akan digunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) menggunakan pelarut etanol dengan berbagai serial konsentrasi.

Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian menggunakan beberapa serial konsentrasi pelarut etanol untuk melihat ada tidaknya perbedaan toksisitas. Sehingga penulis mengambil judul **“Perbedaan toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.)**

dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L.”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada uraian latar belakang, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut.

- a. Berapakah besar toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration* 50 dan 90) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time* 50 dan 90) ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi pelarut etanol 50% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- b. Berapakah besar toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration* 50 dan 90) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time* 50 dan 90) ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi pelarut etanol 70% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- c. Berapakah besar toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration* 50 dan 90) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time* 50 dan 90) ekstrak daun sirih dengan konsentrasi pelarut etanol 96% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- d. Berapakah besar toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration* 50 dan 90) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time* 50 dan 90) ekstrak daun sirih dengan konsentrasi pelarut etanol PA terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- e. Bagaimanakah perbedaan toksisitas berbagai konsentrasi pelarut etanol dalam ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L.?
- f. Bagaimanakah kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada berbagai konsentrasi pelarut etanol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Menganalisis besarnya toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration 50 & 90*) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time 50 & 90*) ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi pelarut etanol 50% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- b. Menganalisis besarnya toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration 50 & 90*) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time 50 & 90*) ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi pelarut etanol 70% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- c. Menganalisis besarnya toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration 50 & 90*) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time 50 & 90*) ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi pelarut etanol 96% terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- d. Menganalisis besarnya toksisitas LC_{50} , LC_{90} (*Lethal Concentration 50 & 90*) dan LT_{50} , LT_{90} (*Lethal Time 50 & 90*) ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi pelarut etanol PA terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- e. Mengetahui perbedaan toksisitas berbagai jenis konsentrasi pelarut etanol dalam ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti L.*
- f. Mengetahui kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) pada berbagai konsentrasi pelarut etanol.

1.4 Batasan Penelitian

Agar masalah ini pembatasannya tidak meluas sesuai dengan tujuan yang diharapkan, maka perlu adanya pembatasan masalah yang dititik beratkan pada :

- a. Toksisitas dalam penelitian ini adalah besarnya LC_{50} dan LT_{50} ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol terhadap larva *Aedes aegypti* L.
- b. Waktu dedah dibatasi selama 24 dan 48 jam
- c. Daun sirih dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau dari tanaman sirih (*Piper betle* L.). Daun yang diambil adalah daun yang terseleksi tidak rusak, cacat atau sobek, dan umur daun tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua yaitu daun ketiga dari pucuk hingga pangkal.
- d. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada stadium larva instar III akhir dan instar IV awal yang terseleksi (sehat, lincah dan ukuran sama) karena larva instar III akhir IV awal nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan instar yang mewakili dan memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi (Wahyuni,1998).
- e. Kematian larva *Aedes aegypti* L. ditunjukkan dengan tidak adanya gerakan / reaksi saat disentuh dengan pipet tetes dan tenggelam di dasar gelas serta warna larva menjadi hitam di bagian abdomen dan tidak mengalami perubahan warna ketika ditetesi eosin (Suhada, 1999 dalam Kurniawati, 2004).
- f. Pelarut yang digunakan adalah etanol dengan serial konsentrasi 50%, 70%, 96%, PA (Pro Analisis).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat antara lain :

- a. Bagi akademik, sebagai realisasi untuk meningkatkan penelitian ilmiah di kampus mengenai tanaman yang mempunyai manfaat sebagai bioinsektisida.
- b. Bagi masyarakat, dapat memberikan informasi tentang pengendalian efektif yang disebabkan oleh larva *Aedes aegypti* dan dapat memotivasi untuk membudidayakan tanaman sirih (*Piper betle* L.).
- c. Bagi peneliti, sebagai penerapan dan pengembangan ilmu pengetahuan serta acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai manfaat daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai bioinsektisida yang ramah lingkungan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirih

Sirih atau dalam bahasa latinnya *Piper betle* L. adalah salah satu dari sejumlah tanaman asli indonesia yang memiliki banyak khasiat untuk kesehatan. Oleh sebab itu, tanaman ini mempunyai beberapa nama yang dikenal di banyak daerah, seperti di Sumatra yaitu furu kuwe, tawuo (Nias), suruh (Palembang, Minangkabau). Nama lain daun sirih di Jawa antara lain Seureuh (Sunda), suruh (Jawa), dan sereh (Madura) (Wijayakusuma dkk, 1992).

Sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman yang dikenal luas oleh masyarakat Indonesia, daerah Asia Selatan, dan Tenggara. Secara tradisional di Indonesia selain untuk upacara keagamaan, sirih juga digunakan sehari-hari untuk memelihara higienitas oral dengan menguyah daunnya, mimisan, gatal-gatal, koreng, untuk mengobati keputihan dan insektisida alami (Heyne, 1987).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Klasifikasi tanaman sirih adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae (suku sirih-sirihan)
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle</i> L.

Plantamor (2008).

2.1.2 Morfologi Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih (*Piper betle* L.) mempunyai ciri-ciri fisik yaitu memiliki akar tunggang yang bentuknya bulat dan berwarna coklat kekuningan (Maytasari, 2010). Batang berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, berkerut, dan berbuku yang merupakan tempat keluarnya akar. Daunnya yang tunggal berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai, dan mengeluarkan bau yang sedap bila diremas. Memiliki panjang sekitar 6 - 17,5 cm dan lebar 3,5 – 10 cm dan warna yang bervariasi dari kuning, hijau, sampai hijau tua. Memiliki bunga berbentuk bulir, berdiri sendiri di ujung cabang dan berhadapan dengan daun. Mempunyai daun perindung berbentuk lingkaran, bundar telur terbalik atau lonjong dan panjang kira-kira 1 mm. Bulir jantan, memiliki panjang gagang 2,5 cm – 3 cm dan mempunyai benang sari sangat pendek. Sedangkan bulir betina, memiliki panjang gagang 2,5 cm – 6 cm. Buah pada tanaman ini terletak bersembunyi atau buni, berbentuk bulat, berdaging dan berwarna kuning kehijauan hingga hijau keabu-abuan Kartasapoetra (1998) dalam Yayuk (2006).



Gambar 2.1 Morfolgi tumbuhan sirih (*Piper betle* L.)
(Sumber: <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1006>)

Pada dasarnya sirih dapat tumbuh subur pada tanah yang kaya zat organik dan cukup air. Tanaman ini tumbuh pada daerah dengan ketinggian mencapai 300 m di atas permukaan laut (Handayani, 2012).

Perbanyakan dapat dilakukan dengan stek batangnya. Batang yang dipilih adalah batang yang sudah agak tua dan terdiri dari 4 – 6 ruas. Kemudian batang tersebut disemaikan di tempat yang teduh, tumbuh subur baru dipindah di pekarangan (Kartasapoetra, 1998).

2.1.3 Jenis-jenis Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Berdasarkan bentuk daun, rasa, dan aromanya, sirih dibedakan menjadi beberapa jenis yaitu :

a. Daun sirih jawa

Daun sirih jawa berwarna hijau tua dan rasanya tidak begitu tajam. Daun sirih ini merupakan jenis yang sering digunakan masyarakat untuk menyirih.

b. Daun sirih banda

Daun sirih banda berdaun besar, berwarna hijau tua dan kuning di beberapa bagian, memiliki rasa dan aroma yang sengkak.

c. Daun sirih cengkeh

Daun sirih cengkeh berdaun kuning, dan rasanya tajam menyerupai rasa cengkeh.

d. Daun Sirih hitam

Daun sirih hitam rasanya sengkak, biasanya digunakan untuk campuran obat (Riana, 2011).

2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Bagian tanaman yang biasanya digunakan adalah daunnya. Daun sirih dapat digunakan sebagai anti bakteri karena mengandung 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methil euganol*, *Caryophyllen* (siskuitenpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen* (Sastroamidjojo, 1997). Karvakol bersifat sebagai desinfektan dan anti jamur sehingga bisa digunakan sebagai anti septik, *euganol* dan *methyl-euganol* dapat

digunakan untuk mengurangi sakit gigi (Syukur dan Hernani, 1997). Selain itu didalam daun sirih juga terdapat flavanoid, saponin, dan tannin.

Menurut Mursito (2002) saponin dan tannin bersifat sebagai anti septik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakteriostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka. Flavanoid selain berfungsi sebagai bakteriostatik juga berfungsi sebagai anti inflamasi. Kartasapoetra (1992) menyatakan daun sirih antara lain mengandung kavikol dan kavibetol yang merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa.

Senyawa yang mendominasi pada tanaman ini adalah senyawa fenol yang menurut Triatsari (2006), mengungkapkan bahwa ekstrak daun sirih berdasarkan cara masuknya ke dalam tubuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tergolong racun perut karena memiliki kandungan fenol yang anti septiknya lima kali lebih efektif bila dibandingkan dengan fenol biasa.

Fenol – fenol alami meliputi senyawa-senyawa flavonoid dan senyawa fenil propanoid dan senyawa-senyawa kinon, serta fenol-fenol polimer, yaitu lignin, melanin dan tanin. Fenol juga terdapat sebagai alkaloid dan terpenoid. Kavikol ditemukan dalam minyak atsiri daun sirih. Senyawa ini berupa cairan, dengan titik lebur 14,8°C bercampur dengan alkohol, eter, kloroform (Kartasapoetra, 1992).

2.1.5 Khasiat dan Kegunaan Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Khasiat daun sirih (*Piper betle* L.) adalah sebagai anti sariawan, anti batuk, dan anti septik (Depkes RI, 1986). Daun sirih (*Piper betle* L.) mempunyai efek sebagai anti bakteri karena mengandung banyak senyawa fenol sehingga dapat membunuh kuman-kuman penyebab penyakit. Secara tradisional, daun sirih (*Piper betle* L.) memang disebutkan sebagai obat sariawan namun belum diketahui bagaimana mekanisme kerjanya, sebagai anti bakteri atau berfungsi lain. Daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung minyak atsiri, salah satu diantaranya komponennya adalah karvakol. Karvakol bersifat sebagai desinfektan dan anti jamur sehingga bisa

digunakan untuk obat anti septik pada bau mulut dan keputihan. Zat lainnya yaitu eugenol dan metil eugenol yang dapat digunakan untuk mengurangi rasa sakit pada gigi (Kartasapoetra, 1992).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan suatu pelarut. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain – lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung pada simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Ekstraksi memanfaatkan pembagian suatu zat terlarut tersebut dari suatu pelarut ke pelarut lain (Ostoby, 2001).

Menurut Voight (1994) ekstrak dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya, yaitu :

- a. Ekstrak kering, memiliki konsentrasi kering dan mudah digosongkan yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak kurang dari 5%.
- b. Ekstrak kental, sediaan ini kuat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kandungan airnya berjumlah sampai 30%.
- c. Ekstrak cair, diartikan sebagai ekstrak cair yang dibuat sedemikian rupa hingga satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian (kadang - kadang satu bagian) ekstrak cair.

Terdapat dua macam metode ekstraksi dengan bantuan pelarut yaitu metode dengan cara dingin dan metode dengan cara panas. Metode dengan cara dingin terbagi menjadi dua macam yaitu maserasi dan perkolasi, sedangkan dengan cara panas terdapat 5 macam yaitu refluks, soxhletasi, digesti, infus dan dekok. Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi dingin, walaupun

ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan (Heinrich *et al*, 2004).

Terdapat sejumlah metode ekstraksi, yang paling sederhana adalah ekstraksi dingin, dengan cara ini bahan kering hasil gilingan diekstraksi pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarnya makin tinggi. Keuntungan cara tersebut adalah metode ekstraksi menjadi mudah karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara beruntutan memungkinkan pemisahan bahan-bahan alam berdasarkan kelarutannya (dan polaritasnya) dalam pelarut ekstraksi. Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dengan memungkinkan banyak senyawa tereaksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Heinrich *et al*, 2004).

Metode penyarian atau ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan bahan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel, 1989).

a. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana, maserasi simplisia sudah halus direndam dalam cairan sampai meresap dan meluluhkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut.

b. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi dilakukan dengan cara menambahkan serbuk dengan air secukupnya dalam penangas air selama 15 menit yang dihitung mulai suhu di panci mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar bakteri dan jamur.

c. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

d. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Depkes RI, 1986).

Ekstraksi cara lainnya terbagi atas beberapa metode, yaitu:

a. Ekstraksi Dengan Bantuan Gelombang Mikro

Gelombang mikro atau mikro gelombang (microwave) adalah gelombang elektromagnetik dengan frekuensi super tinggi (Super High Frequency, SHF), yaitu diatas 3GHz (3×10^9 Hz). Pemanasan dengan gelombang mikro mempunyai kelebihan yaitu pemanasan lebih merata karena bukan mentransfer panas dari luar tetapi membangkitkan panas dari dalam bahan tersebut. Pemanasannya juga dapat bersifat selektif artinya tergantung dari dielektrik properties bahan. Hal ini akan menghemat energi untuk pemanasan (Indah, 2012).

Ekstraksi gelombang mikro dapat menyebabkan pergerakan molekul dengan migrasi ion dan rotasi dari dua kutub, tetapi tidak mengubah struktur molekulnya. Pemanasan akibat gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur, sehingga analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi ke pelarut (Surya, 2009).

b. Metode ekstraksi tekanan tinggi

Metode ekstraksi tekanan tinggi (High Pressure Extraction) merupakan proses ekstraksi yang menggunakan pelarut dalam kondisi tekanan tinggi. Ekstraksi tekanan tinggi merupakan metode turunan dan penyederhanaan dari metode SFE. Metode ekstraksi tekanan tinggi hanya menggunakan tekanan dengan rentang 1 hingga 15 bar (Surya, 2009).

c. Metode Sonikasi (Ekstraksi Ultrasonik)

Maserasi dengan metode sonikasi yaitu dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat menghancurkan sel daun sehingga mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut (Dean, 1998). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi, biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia (Thompson and Doraiswamy, 1999).

Pada reaktor ultrasonik/sonikator, gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi (*cavitation bubbles*) pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan (*liquid jets*) yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan. Cara ekstraksi ini biasanya lebih cepat dan lebih efisien dibandingkan cara-cara ekstraksi yang terdahulu (Cintas dan Cravotto, 2005).

Beberapa ekstraksi berbantu ultrasonik yang telah dilakukan oleh Yang dkk. (2009), Rouhani dkk. (2009), dan Zhang dkk. (2009) menunjukkan bahwa hasil ekstraksi lebih besar dan waktu lebih cepat dibandingkan metode konvensional. Energi dalam ultrasonik merupakan intensitas gelombang ultrasonik yang merambat dan membawa energi pada suatu luas permukaan per satuan waktu. Jika energi gelombang ultrasonik tersebut melalui jaringan, maka akan melepaskan energi kalor sehingga terjadi pemanasan yang mengakibatkan suhu jaringan meningkat dan kemudian menimbulkan efek kavitasi, yaitu pembentukan, pertumbuhan dan pecahnya gelembung didalam sebuah cairan. Ketika gelembung kavitasi akustik pecah mendekati atau pada permukaan solid, maka permukaan solid tersebut memberikan resistensi terhadap aliran cairan. Hal ini menyebabkan cairan microjet mengarah pada permukaan material dengan kecepatan sampai dengan 200m s⁻¹ (Bendicho dan Lavilla, 2000).

Selain itu sejumlah hasil penelitian menunjukkan bahwa penerapan teknik intensitas ultrasonik mampu mengekstrak senyawa fitokimia, seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein dan minyak esensial dari berbagai bagian tanaman dan bibit tanaman (Firdaus dalam Bakti, 2011). Ekstraksi ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik baik pada dinding maupun membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek tersebut berdampak pada penetrasi pelarut yang lebih baik terhadap material sel yang pada akhirnya akan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif dari sel ke pelarut. Hal ini dapat terjadi apabila sebelumnya didahului oleh fenomena runtuhnya gelembung yang dihasilkan oleh kavitasi. Proses isolasi dan pemurnian senyawa fitokimia dengan teknik ekstraksi konvensional kurang efisien. Penggunaan ultrasonik sejak 1950-an telah mampu meningkatkan hasil ekstraksi pada skala laboratorium (Rodrigues dalam Bakti, 2011).

Tabel 2.1 Perbandingan ekstraksi soxhlet dengan ekstraksi ultrasonik
(Soni dalam Bakti, 2011)

Deskripsi	Ekstraksi Soxhlet	Ekstraksi Ultrasonik
Waktu Ekstraksi	3 - 48 jam	10 – 60 menit
Ukuran Sampel	1 – 30 g	1 – 30
Penggunaan Pelarut	100 – 500 mL	30 – 200 mL
Investasi	Rendah	Rendah
Keuntungan	Tidak membutuhkan filtrasi	Multiple ekstraksi

Keuntungan proses sonikasi (*Microwave*) antara lain: waktu ekstraksi relatif cepat, kebutuhan pelarut minimal, yield ekstraksi meningkat, lebih akurat dan presisi. Sedangkan kelemahannya yaitu harganya yang mahal dan membutuhkan proses curing. Pada prinsipnya proses curing merupakan suatu proses terjadinya reaksi kimia awal jaringan ikat kolagen kulit dengan bahan *curing* baik dengan menggunakan bahan curing asam, basa maupun enzim. Proses *curing* menyebabkan struktur ikatan intermolekuler dan intermolekuler pada protein kolagen kulit melemah ataupun terjadi proses pemutusan rantai ikatan asam amino secara parsial (Dean, 1998).

2.3 Pelarut Etanol

Etanol atau etil alkohol (C_2H_5OH) merupakan pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Ia juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena (Paturau, 1982).

Etanol dapat dipandang sebagai turunan dari etana C_2H_6 dengan salah satu atom H digantikan dengan gugus hidroksil. Gugus hidroksil akan membangkitkan polaritas pada molekul dan menimbulkan ikatan hidrogen antar molekul. Sifat-sifat kimia dan fisik etanol sangat tergantung pada gugus hidroksil. Studi spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa pada keadaan cair, ikatan-ikatan hidrogen terbentuk karena tarik menarik antar hidrogen-hidroksil satu molekul dengan oksigen-hidroksil dari molekul yang lain. Ikatan hidrogen mengakibatkan etanol cair sebagian besar terdimerisasi. Dalam keadaan uap, molekul-molekul etanol bertabiat monomerik (Longsdon, 1994).

Dalam pemilihan jenis pelarut faktor yang perlu diperhatikan antara lain adalah daya melarutkan bahan (berdasarkan kepolaritasan), titik didih, sifat racun, mudah tidaknya terbakar dan pengaruh terhadap alat peralatan ekstraksi. Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Pelarut yang mempunyai gugus karboksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk dalam pelarut polar. Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya (Paturau, 1982).

Kelemahan penggunaan pelarut etanol adalah etanol larut dalam air, dan juga melarutkan komponen lain seperti karbohidrat, resin dan gum. Larutnya komponen ini mengakibatkan berkurangnya tingkat kemurniannya. Keuntungan menggunakan

pelarut etanol dibandingkan dengan aseton yaitu etanol mempunyai kepolaran lebih tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat, dan senyawa organik lainnya. Paturau (1982), menggolongkan mutu etanol menjadi 4 golongan yaitu: etanol industri, spiritus, etanol murni, dan etanol absolut. Etanol industri adalah etanol dengan kadar 96,5°GL biasanya digunakan untuk industri dan tujuan lain seperti sebagai pelarut, bahan bakar, serta untuk bahan baku produksi senyawa kimia lain. Etanol industri biasanya didenaturasi oleh 0,5-1% piridin kasar dan biasanya diwarnai dengan metil violet supaya mudah dikenali. Spiritus adalah etanol industri asli yang telah didenaturasi dan diwarnai dengan kadar 88°GL. Spiritus digunakan untuk bahan bakar pemanasan dan penerangan. Etanol murni adalah suatu jenis etanol dengan kadar 96,0-96,5°GL yang digunakan terutama untuk industri farmasi dan kosmetik serta untuk minuman beralkohol sedangkan etanol absolut adalah etanol dengan kadar yang sangat tinggi yaitu 99,7-99,8°GL.

2.4 Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk adalah serangga tergolong dalam ordo Diptera. Nyamuk mempunyai dua sayap bersisik (*scaled wings*), tubuh yang langsing, dan enam kaki panjang dengan ukuran berbeda (jarang yang melebihi 15mm). Pada nyamuk betina, bagian mulut membentuk proboscis panjang untuk menembus kulit dan menghisap darah (Ensiklopedi Indonesia, 1989).

Nyamuk dari genus *Aedes aegypti* L. yang telah ditemukan ± 125 spesies (jenis), diantaranya yakni *Aedes aegypti* L. (Ensiklopedia Nasional Indonesia, 1990). *Aedes aegypti* L. merupakan vektor demam berdarah atau pembawa virus *dengue* yang mengakibatkan penyakit *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF). Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan Diptera bersayap dua yang berasal dari famili *Culicidae* dimana famili ini mencakup sekitar 3.000 spesies yang sudah diketahui (Ensiklopedi Indonesia, 1989).

Secara morfologi nyamuk *Aedes aegypti* memiliki garis putih yang agak melengkung di bagian thoraksnya sehingga dapat dibedakan dengan *Aedes albopictus*. Selain itu pada tarsus *Aedes aegypti* terdapat gelang putih. Nyamuk betina *Aedes aegypti* memiliki bentuk abdomen yang lancip pada ujungnya. Ukuran tubuh nyamuk betina lebih besar dibandingkan nyamuk jantan (Gillot, 2005).

2.4.1 Sistematika Taksonomi *Aedes aegypti* L.

Sistematika taksonomi lengkap dari nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Hexapoda
Class	: Insecta
Subclass	: Pterygota
Superorder	: Holometabola
Order	: Diptera
Suborder	: Nematocera
Family	: Culicidae
Subfamily	: Culicinae
Genus	: Aedes
Species	: <i>Aedes aegypti</i> L. (ITIS, 2011).

2.4.2 Habitat *Aedes aegypti* L.

Aedes sp. termasuk nyamuk yang aktif pada siang hari dan biasanya akan berbiak dan meletakkan telurnya pada tempat – tempat penampungan air bersih atau genangan air hujan misalnya bak mandi, tangki penampungan air, vas bunga (baik di lingkungan dalam rumah, sekolah, perkantoran maupun pekuburan), kaleng bekas, kantung plastik bekas, di atas lantai gedung terbuka, talang rumah, pagar bambo, kulit buah (rambutan, tempurung kelapa), ban bekas ataupun semua bentuk kontainer yang dapat menampung air bersih (Sembel, 2009).

Aedes aegypti L. dewasa terutama hidup dan mencari mangsa di dalam lingkungan rumah atau bangunan sedangkan *Aedes albopictus* lebih menyukai hidup dan mencari mangsa di luar lingkungan rumah atau bangunan yaitu di kebun yang rimbun dengan pepohonan (Soedarto, 2008).

Jarak terbang maksimum antara *breeding place* dengan sumber makanan pada *Aedes sp.* antara 50 sampai 100 mil. Umumnya nyamuk tertarik oleh cahaya terang, pakaian berwarna gelap dan oleh adanya manusia atau hewan. Daya penarik jarak jauh disebabkan karena perangsangan bau dari zat – zat yang dikeluarkan dari hewan ataupun manusia, CO₂ dan beberapa Asam Amino serta lokasi yang dekat dengan temperatur hangat serta lembab (Neva FA and Brown HW, 1994).

2.4.3 Morfologi *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa memiliki ukuran sedang dengan tubuh berwarna hitam kecoklatan. Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan gari-garis putih keperakan. Di bagian punggung (dorsal) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari spesies ini. Sisik-sisik pada tubuh nyamuk pada umumnya mudah rontok atau terlepas sehingga menyulitkan identifikasi pada nyamuk-nyamuk tua. Ukuran dan warna nyamuk jenis ini kerap berbeda antar populasi, tergantung dari kondisi lingkungan dan nutrisi yang diperoleh nyamuk selama perkembangan. Nyamuk jantan dan betina tidak memiliki perbedaan dalam hal ukuran nyamuk jantan yang umumnya lebih kecil dari betina dan terdapatnya rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan. Kedua ciri ini dapat diamati dengan mata telanjang (Tulafi, 2013).

Berdasarkan kelasnya, nyamuk *Aedes aegypti* L. memiliki tubuh terbagi menjadi tiga daerah yaitu kepala, dada, dan perut. Kepala mempunyai sepasang antenna, dada dengan 3 pasang kaki dan sepasang sayap (Sastrodiharjo, 1984). Menurut familinya, nyamuk ini mempunyai ciri-ciri: sayap panjang, sempit dengan sisik-sisik sepanjang vena atau tepi sayap. Jantan berantena plumose. Betina dengan sedikit rambut-rambut pada antena. Proboscis panjang, tidak mempunyai *ocelli*

(Lilies, 1997). Nyamuk *Aedes aegypti* L. dikenal juga sebagai *Tiger mosquito* atau *Black White* karena tubuhnya berupa corong untuk masuknya spermatozoa (Palgunadi dan Rahayu, 2011).

Adapun morfologi *Aedes aegypti* L. melalui tingkatan telur, larva (jentik), pupa (kepompong), dan Imago (dewasa) dapat dijelaskan sebagai berikut.

a. Telur

Telur *Aedes aegypti* L. berwarna hitam, berbentuk seperti torpedo, oval memanjang, ellips dan mempunyai permukaan yang polygon. Telur *Aedes* dibungkus dalam kulit berlapis 3 yang mempunyai saluran berupa corong yang berfungsi sebagai tempat masuknya spermatozoa. Telur *Aedes aegypti* L. berukuran 0,5 – 0,8 mm (Brown, 1979). Di bawah mikroskop, pada dinding luar (*Excochorion*) telur nyamuk ini nampak adanya garis-garis yang membentuk gambaran menyerupai sarang lebah (Wahyuni, 1998). Telur-telur *Aedes aegypti* L. dapat ditemukan diatas permukaan air atau di dekat air. Biasanya telur-telur ini akan menetas bila tersiram air (Borror *et al*, 1992). Telur nyamuk ini dapat bertahan sampai berbulan pada suhu -2°C sampai 42°C . Namun bila kelembapan terlampau rendah maka telur sampai menjadi nyamuk dewasa berlangsung sekurang-kurangnya 9 hari. Sekali bertelur nyamuk ini bisa menghasilkan sekitar 10 hingga 100 butir telur yang bentuknya seperti cerutu dengan warna kehitam-hitaman (Nurdia dalam Lukitasari, 2007).



Gambar 2.2 Telur Nyamuk *Aedes aegypti* L. (perbesaran 100x)
(Sumber: Puspita, 2009)

b. Larva (jentik)

Munurut Jumar (2000), larva merupakan bentuk serangga muda, perpindahan antara telur dan pupa. Pada serangga yang mengalami metamorfosis holometabol, secara umum larva memiliki ciri-ciri tidak memiliki tunas, sayap dan tanpa mata majemuk dengan bentuk tubuh yang berbeda dengan serangga dewasa. Secara morfologi dalam Ensiklopedia Nasional Indonesia (1990) larva nyamuk *Aedes aegypti* L. berwarna hitam, bergerak aktif di dalam air dan pada waktu mengambil udara dipermukaan air, badannya tegak lurus dengan permukaan air. Menurut Borror *et al* (1992), larva bernafas pada permukaan air melalui satu buluh pernafasan pada ujung posterior tubuh yakni melalui struktur seperti terompet yang kecil pada thoraks. Selain itu larva *Aedes aegypti* L. juga mempunyai sepasang batang rambut pada saluran pernafasan yang relatif pendek dan gembung serta memiliki sklerotisasi ruas dubur yang berkembang tidak sempurna. Larva kebanyakan merupakan jenis pemakan Algae dan kotoran organik, namun ada beberapa yang bersifat pemangsa dengan memakan larva nyamuk lain.

Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang terdiri atas empat instar semuanya hidup didalam air. Keempat instar tersebut diselesaikan dalam waktu 4 hari–2 minggu tergantung pada ketersediaan makanan. Pada air yang agak dingin perkembangan larva lebih lambat, demikian juga dengan keterbatasan persediaan makanan juga akan menghambat perkembangan larva. Setelah melewati stadium instar keempat, larva akan berubah menjadi pupa (Supartha, 2008). Larva instar I berukuran sangat kecil, panjang badan 1-2 mm dan warna tubuhnya masih transparan. Larva instar II berukuran panjang 2,5-3,9 mm, duri-duri pada thorax belum jelas dan siphon mulai berwarna agak kecoklatan. Larva instar III panjang badannya 4-5 mm, duri-duri pada thorax sudah jelas dan siphon sudah berwarna coklat. Larva Instar IV telah lengkap pertumbuhannya dengan panjang badan 5-7 mm, pada kepala terdapat sepasang mata, sepasang antena, tanpa duri-duri, dan mulut tipe mengunyah (Brown, 1979).



Gambar 2.3 Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III (perbesaran 100x)
(Sumber: Rini, 2012)

c. Pupa (kepompong)

Pupa *Aedes aegypti* L. berbentuk bengkok dengan kepala besar sehingga menyerupai tanda koma, memiliki siphon pada thorak untuk bernafas. Pupa nyamuk *Aedes aegypti* L. bersifat aquatik dan tidak seperti kebanyakan pupa serangga lain yaitu sangat aktif dan seringkali disebut akrobat (*tumbler*). Pupa *Aedes aegypti* L. tidak makan tetapi masih memerlukan O_2 untuk bernafas melalui sepasang struktur seperti terompet yang kecil pada thorak (Gandasuhada *et al.*, 1998). Pupa mudah mati bila dibekukan atau dikeringkan. Stadium pupa berlangsung 2 sampai 5 hari, tapi dapat sampai 10 hari pada suhu rendah (Brown, 1979).

Pupa adalah bentuk tidak makan. Waktu istirahat atau mengambil nafas, posisi badan berada di bawah permukaan air dengan menonjolkan sepasang terompetnya ke permukaan air. Pupa dapat bergerak lincah ke dasar apabila ada bahaya atau merasa terancam. Umur pupa adalah 2-3 hari, setelah itu menetas menjadi nyamuk (Gandasuhada *et al.*, 1998).



Gambar 2.4 Pupa *Aedes aegypti* L. (perbesaran 100x)
(Sumber: Rini, 2012)

d. Imago (dewasa)

Menurut Brown (1979), nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa tubuhnya tersusun dari 3 bagian yaitu kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk dan antena yang berbulu. Alat mulut betina mempunyai tipe penusuk pnghisap, sedangkan nyamuk jantan bagian mulutnya lebih lemah, sehingga tidak mampu menembus kulit manusia. Pada bagian dada tersusun atas tiga ruas yaitu: prothorax, mesothorax, dan metathorax. Setiap ruas dada terdapat sepasang kaki yang terdiri atas femur, tibia dan tarsus. Pada bagian dada juga terdapat sayap tanpa nodanoda hitam. Pada bagian perut terdiri dari delapan ruas terdapat bintik-bintik putih (Suroso dkk, 1999).

Umur nyamuk jantan lebih pendek dari pada nyamuk betina, dan terbang tidak jauh dari tempat perindukannya, sedangkan nyamuk betina umumnya lebih panjang dari pada nyamuk jantan dan perlu menghisap darah untuk pertumbuhan telurnya (WHO, 2005). Nyamuk dapat hidup dengan baik pada suhu 29°C, serta akan mati bila berada pada suhu 6°C selama 24 jam. Nyamuk dapat hidup pada suhu 7-9°C. Rata-rata lama hidup nyamuk betina *Aedes* selama 10 hari (Djunaedi, 2006).

Nyamuk *Aedes aegypti* L. beristirahat sejajar dengan permukaan tempat yang dihinggapinya, dan umumnya menggigit manusia pada waktu pagi atau sore hari.

Meskipun demikian, tidak menutup kemungkinan nyamuk ini menggigit di waktu malam hari bila terdapat sinar yang cukup terang (Nurdia, 2003).



Gambar 2.5 Nyamuk Dewasa *Aedes aegypti* L.
(Sumber: Alghifari, 2009).

2.4.4 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L.

Siklus hidup merupakan masa perkembangan suatu makhluk hidup untuk mencapai suatu tahap kesempurnaan. *Aedes aegypti* mengalami metamorfosis lengkap / metamorfosis sempurna (holometabola) yaitu dengan bentuk siklus hidup berupa Telur, Larva (beberapa instar), Pupa dan Dewasa (James MT and Harwood RF, 1969). Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L. dimulai dari tahap telur yang diletakkan dalam air menetas dalam waktu 1 sampai 3 hari pada suhu 30°C. Selama masa bertelur, menurut Kardinan (2003), seekor nyamuk betina mampu meletakkan 100 - 400 butir telur. Telur-telur tersebut diletakkan dibagian yang berdekatan dengan permukaan air. Telur menetas menjadi larva (jentik) setelah tujuh hari pada suhu 16°C. Telur yang menetas akan menjadi larva dan posisi larva nyamuk demam berdarah tersebut berada dalam air (Brown, 1979).

Menurut Soegijanto (2004), kecepatan pertumbuhan dan perkembangan larva dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu temperatur, tempat, keadaan air dan kandungan zat makanan yang ada di dalam tempat perindukan. Selanjutnya telur yang menetas, akan menjadi larva dan posisi larva nyamuk tersebut berada dalam air.

Terdapat empat tahap perkembangan larva yang disebut dengan instar. Perkembangan dari instar 1 ke instar 4 memerlukan waktu sekitar 5 hari. Setelah mencapai instar ke-4, larva berubah menjadi pupa dimana larva memasuki masa dorman. Pupa bertahan selama 2 hari sebelum akhirnya nyamuk dewasa keluar dari pupa. Perkembangan dari telur hingga nyamuk dewasa membutuhkan waktu 7 hingga 8 hari, namun dapat lebih lama jika kondisi lingkungan tidak mendukung (Womark, 1993).

Nyamuk jantan berumur lebih pendek dari nyamuk betina. Makanan nyamuk jantan yaitu nektar dari buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan sedangkan nyamuk betina membutuhkan darah untuk perkembangan telurnya. Kopulasi nyamuk *Aedes aegypti* L. dapat terjadi pada ruang yang terbatas (Judson dalam Ramadja, 1996).



Gambar 2.6 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L.
(Sumber: Agnesa, 2011).

2.4.5 Perilaku Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. bersifat diurnal atau aktif pada pagi hingga siang hari (Ginanjari, 2003). Nyamuk betina memiliki dua periode aktivitas menggigit, pertama di pagi hari selama beberapa jam setelah matahari terbit dan sore hari selama beberapa jam sebelum gelap. Puncak aktivitas menggigit yang sebenarnya dapat beragam bergantung lokasi dan musim. Jika masa makanannya terganggu, nyamuk

tersebut dapat menggigit lebih dari satu orang. Perilaku ini semakin memperbesar efisiensi penyebaran epidemi (WHO, 2004).

Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang menghisap darah. Hal itu dilakukan untuk memperoleh asupan protein, antara lain prostaglandin, yang diperlukannya untuk bertelur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah, dan memperoleh sumber energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan (Ginanjar, 2003). *Aedes aegypti* L. biasanya tidak menggigit di malam hari, tetapi akan menggigit saat malam di kamar yang terang (WHO, 2004).




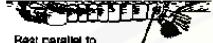






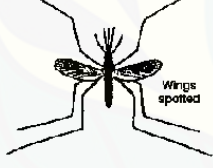

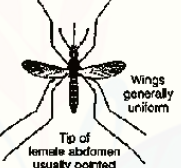

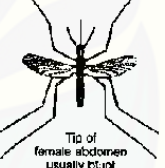
Ada dua faktor utama dalam penyebaran penyakit demam berdarah, yaitu vektor (nyamuk) dan sumber infeksi, dalam hal ini orang yang sakit dan masih mengandung virus aktif demam berdarah. Karena itu, orang yang digigit nyamuk demam berdarah betina belum tentu terjangkit penyakit demam berdarah karena nyamuk tersebut tidak membawa sumber penyakit. Artinya, jika tidak ada orang yang menderita penyakit demam berdarah di sekitar kita, nyamuk tidak akan menularkan penyakit itu, kecuali ada nyamuk yang terbawa dari daerah lain yang sudah terinfeksi virus demam berdarah (Kardinan, 2004: 5).

2.5 Perbedaan Telur, Larva, Pupa dan Dewasa pada Nyamuk *Aedes*, *Anopheles*, dan *Culex*.

Famili Culcidae dibagi dalam dua sub famili yaitu Anophelinae (genus *Anopheles* yang banyak) dan Culicinae (termasuk golongan *Theobaldia*, *Mansonia*, *Aedes*, dan *Culex*) mempunyai spesies yang merupakan vektor penyakit untuk manusia. Genus yang penting dalam bidang kesehatan adalah *Anopheles*, *Aedes* dan *Culex*. Spesies dalam genus *Anopheles* merupakan vektor penyakit malaria, sedangkan genus *Aedes* sebagai vektor utama penyakit demam berdarah dan demam kuning (*yellow fever*) dan spesies dalam genus *Culex* merupakan vektor dari beberapa penyakit protozoa, cacing, dan virus (Geocities, 2006).

Jumlah telur maksimum yang diletakkan satu kali sebanyak 100 sampai 400 butir. Nyamuk *Anopheles* meletakkan lebih dari 1000 butir telur selama hidupnya. Bentuk telur antar spesies tersebut berbeda-beda. Nyamuk *Anopheles* memiliki bentuk telur yang menyerupai perahu dengan pelampung dari *chorion* yang berkeluk-keluk di sebelah lateral. Telur *Culex* memiliki bentuk yang meruncing dengan puncak berupa mangkok dan melekat satu sama lainnya menyerupai rakit sedangkan telur *Aedes* berbentuk seperti torpedo, oval memanjang, elips dan mempunyai permukaan yang poligonal. Larva nyamuk *Anopheles* yang istirahat bergantung horizontal terhadap permukaan air, sedangkan larva *Culex* bergantung membentuk sudut. Nyamuk dalam genus *Culex* mengalami metamorfosis secara sempurna dimana dalam siklus hidupnya dari larva sampai pupa berkembang di dalam air. Pada genus *Anopheles* telur harus selalu kontak dengan air supaya dapat menetas, biasanya telur menetas dalam waktu 2 - 6 hari (Brown 1979).

Geocities (2006) menyatakan bahwa larva *Anopheles* berkembang dalam waktu 2 minggu dan membentuk pupa selama 3 hari. Perkembangan dari telur sampai dewasa memerlukan waktu 3 minggu sampai 1 bulan. Tempat perindukan *Anopheles* berbeda dengan *Aedes* yaitu di genangan air sawah, muara sungai, saluran irigasi, rawa, sumur, dan sebagainya.

<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Eggs  Laid singly Has floats	Eggs  Laid singly No floats	Eggs  Laid in rafts No floats
Larvae  Rest: parallel to water surface Rudimentary breathing tube	Larvae  Rest at an angle to the water surface Air tube Short, stout breathing tube with one pair of hair tufts	Larvae  Rest at an angle to the water surface Air tube Long, slender breathing tube with several pairs of hair tufts
Pupae (differ only slightly)   		
Adult Proboscis and body in same straight line  Maxillary palps Maxillary palps as long as proboscis  Wings spotted Tip of female abdomen usually pointed	Adult Proboscis and body at an angle to one another  Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis  Wings generally uniform Tip of female abdomen usually pointed	Adult Proboscis and body at an angle to one another  Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis  Wings generally uniform Tip of female abdomen usually blunt

Gambar 2.7 Perbedaan Telur, Larva, Pupa, Imago *Anopheles*, *Aedes*, dan *Culex* (Sumber: Isna, 2013)

2.6 Faktor Lingkungan Fisik yang Mempengaruhi Kehidupan Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kehidupan nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik seperti curah hujan, temperatur, dan evaporasi dapat mempengaruhi kegagalan telur, larva dan pupa nyamuk menjadi imago. Demikian juga faktor biotik seperti predator, parasit, kompetitor dan makanan yang berinteraksi dalam konteks sebagai habitat akuatiknya pradewasa juga sangat berpengaruh terhadap keberhasilannya menjadi imago. Keberhasilan itu juga ditentukan oleh kandungan air seperti bahan organik,

komunitas mikroba, dan serangga air yang ada dalam suatu wadah itu juga berpengaruh terhadap siklus hidup *Aedes aegypti*. Faktor curah hujan mempunyai pengaruh nyata terhadap fluktuasi populasi *Aedes aegypti*. Suhu juga berpengaruh terhadap aktifitas makan, dan laju perkembangan telur menjadi larva, larva menjadi pupa dan pupa menjadi imago (Supartha, 2008).

Menurut Qoriah (2012), faktor fisik yang mempengaruhi kehidupan nyamuk *Aedes aegypti* L. yaitu :

a. Suhu

Faktor suhu sangat mempengaruhi nyamuk *Aedes aegypti* dimana nyamuk dapat bertahan hidup pada suhu rendah (10°C) tetapi proses metabolismenya menurun atau bahkan berhenti bila suhu sampai di bawah suhu ($4,5^{\circ}\text{C}$) pada suhu yang lebih tinggi dari 35°C mengalami keterbatasan proses fisiologis. Suhu optimum untuk pertumbuhan nyamuk berkisar antara $25^{\circ} - 27^{\circ}\text{C}$. Suhu udara mempengaruhi perkembangan virus dalam tubuh nyamuk.

b. Kelembapan Udara

Kelembaban udara adalah banyaknya uap air yang terkandung dalam udara yang dinyatakan dalam (%). Jika udara kekurangan uap air yang besar maka daya penguapannya juga besar. Sistem pernafasan nyamuk menggunakan pipa udara (*trachea*) dengan lubang-lubang pada dinding tubuh nyamuk (*spiracle*). Adanya *spiracle* yang terbuka lebar tanpa ada mekanisme pengaturannya. Pada saat kelembaban rendah menyebabkan penguapan air dalam tubuh sehingga menyebabkan keringnya cairan tubuh. Salah satu musuh nyamuk adalah penguapan, kelembaban mempengaruhi umur nyamuk, jarak terbang, kecepatan berkembang biak, kebiasaan menggigit, istirahat dan lain-lain.

2.7 Insektisida

Insektisida merupakan semua bahan kimia yang dapat membunuh serangga, dan menurut undang-undang juga mencakup bahan kimia lainnya yang mempunyai daya tarik atau yang dapat menolak serangga tertentu (Kusumaningrum, 2007). Insektisida yang baik (ideal) mempunyai daya bunuh yang besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi binatang vertebrata termasuk manusia dan ternak, murah dan mudah didapat, mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar serta tidak berwarna dan tidak berbau yang tidak menyenangkan (Bowono, 2003).

2.7.1 Jenis Insektisida

a. Insektisida Anorganik

Insektisida anorganik adalah insektisida yang berasal dari unsur-unsur alamiah dan tidak mengandung karbon. Contohnya asam borat, arsenat timbal, kalsium arsenat, sulfat tembaga, dan kapur belerang.

b. Insektisida Sintetik

Insektisida sintetik adalah insektisida yang terdiri atas unsur-unsur karbon, hidrogen, fosfor, dan nitrogen. Kelompok ini merupakan hasil buatan pabrik dengan melalui proses sintesis kimiawi. Insektisida modern pada umumnya merupakan insektisida sintetik (Jumar, 2000).

c. Insektisida Nabati

Insektisida nabati adalah insektisida yang bahan aktifnya berasal dari tumbuhan atau bagian tumbuhan seperti akar, daun, batang atau buah. Bahan-bahan ini diolah menjadi berbagai bentuk, antara lain bahan mentah berbentuk tepung, ekstrak atau resin yang merupakan hasil pengambilan cairan metabolit sekunder dari bagian tumbuhan atau bagian tumbuhan dibakar untuk diambil abunya dan digunakan sebagai insektisida (Thamrin, 2010). Cara masuk insektisida botani ke dalam tubuh serangga ada 3, yaitu (1) melalui dinding badan, kulit (kutikel), (2) melalui mulut dan saluran makanan (racun perut) dan (3) melalui jalan nafas (spirakel) misalnya dengan fumigant (Kardinan, 2004).

Menurut Diana (2004), insektisida nabati atau insektisida botani mempengaruhi serangga melalui berbagai macam antara lain menghambat perkembangan-perkembangan telur, larva, pupa, menghambat pergantian kulit pada stadium larva, mengganggu kopulasi dan komunikasi seksual serangga, penolak makan, mencegah betina menolak telur, menghambat reproduksi atau membuat serangga mandul, meracuni larva dan serangga dewasa serta mengurangi nafsu makan atau memblokir kemampuan makan serangga.

Menurut Kardinan (1999), insektisida botani relatif mudah dibuat, mudah terurai dan relatif aman bagi manusia dan ternak. Penggunaan insektisida nabati dimaksudkan untuk alternatif dan meminimalkan penggunaan insektisida sintesis sehingga kerusakan lingkungan dapat dikurangi. Insektisida nabati mengandung bahan yang mudah terdegradasi di alam serta mempunyai dampak yang kecil terhadap lingkungan sehingga tidak berbahaya. Insektisida nabati ini, yang nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengganti insektisida sintetik yang mengandung bahan kimia yang dapat merugikan lingkungan.

2.7.2 Penggolongan Insektisida

Penggolongan insektisida berdasarkan cara masuknya ke dalam serangga (Gandahusada, 1998) dapat dijelaskan sebagai berikut :

a. Racun Kontak (*contac poisons*)

Racun kontak adalah insektisida yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui kulit, celah atau lubang alami pada tubuh atau langsung mengenai mulut serangga. Serangga akan mati apabila bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tersebut. Kebanyakan racun kontak juga berperan sebagai racun perut (Metusala, 2006). Insektisida masuk melalui eksoskelat ke dalam badan serangga dengan perantaraan tarsus (jari-jari kaki) pada waktu istirahat di permukaan yang mengandung residu insektisida. Pada umumnya dipakai untuk memberantas serangga yang mempunyai bentuk mulut tusuk isap (Gandahusada, 1998).

b. Racun Perut (*stomach poisons*)

Alat pencernaan makanan serangga terdiri dari tiga bagian, yaitu bagian depan, tengah dan belakang. Bagian depan dan belakang mempunyai dinding dengan susunan seperti dinding tubuh, sehingga penyerapan pada bagian depan dan belakang sama dengan penyerapan pada dinding tubuh. Insektisida masuk ke dalam badan serangga melalui mulut, jadi harus dimakan. Biasanya serangga yang diberantas dengan menggunakan insektisida ini mempunyai bentuk mulut menggigit dan bentuk mengisap (Gandahusada, 1998).

c. Racun Pernapasan (*fumigants*)

Serangga bernafas dengan sistem tabung yang disebut trakea. Trakea memiliki muara pada dinding tubuh dan disebut stigma atau spirakel. Insektisida dapat memasuki sistem pernapasan dalam bentuk gas ataupun butir-butir halus yang dibawa ke jaringan-jaringan hidup (Sastrodiharjo, 1984). Insektisida masuk melalui sistem pernapasan (spirakel) dan juga melalui permukaan badan serangga. Insektisida ini dapat digunakan untuk memberantas semua jenis serangga tanpa harus memperhatikan bentuk mulutnya. Penggunaan insektisida ini harus hati-hati sekali terutama bila digunakan untuk pemberantasan serangga di ruang tertutup (Gandahusada, 1998:).

2.8 Toksisitas Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih merupakan tanaman yang berasal dari famili *piperaceae*. Berdasarkan banyak penelitian yang telah banyak dilakukan, telah terbukti bahwa tanaman dari famili *piperaceae* memiliki potensi sebagai insektisida botani (Kardinan, 2002). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Harsel dalam Parwata dkk (2011), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* Linn) pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*. Aktivitas ini diduga karena kandungan senyawa fenol dan derivatnya yang mencapai 30% pada ekstrak etanol maupun minyak atsiri daun sirih (Heyne, 1987). Derivate fenol

(eugenol dan chavicol) yang terkandung dalam daun sirih berkhasiat antiseptik dan khususnya Kavikol diketahui mempunyai daya pembunuh bakteri lima kali fenol (Dharmananda, 2004). Cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel (Pelczar dan Chan, 1981). Dengan terdenaturasinya protein sel, maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Lawrence dan Block, 1968).

Berdasarkan penelitian Elisabeth Edi Saraswati Lipuringtyas (2009), menunjukkan hasil penelitian dengan menggunakan pelarut etanol 96 % menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) toksis terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dengan nilai LC50 pada 24 jam dan 48 jam berturut – turut adalah 188,52981 ppm dan 176,63436 ppm sedangkan LC90 pada 24 jam dan 48 jam berturut – turut adalah 352,7326 ppm dan 325,68069 ppm.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian kuantitatif karena hasil dari penelitian didapat data berupa angka. Berdasarkan ada tidaknya perlakuan dan tempat atau lokasi penelitian, maka penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai bahan uji, dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Ekstraksi daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi (Laboratorium Fitokimia) Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian mengenai perbedaan perlakuan toksisitas konsentrasi pelarut ekstrak terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dilakukan di Laboratorium Toksikologi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan bulan Agustus - September 2015.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel merupakan ciri individu, obyek, gejala, peristiwa yang dapat diukur secara kuantitatif/kualitatif. Beberapa jenis variabel yang terkait dengan penelitian eksperimen yaitu:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Dalam penelitian ini, variabel

bebas yang digunakan adalah serial konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mati dalam berbagai serial konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan sehingga hubungan variabel bebas dan terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak ikut diteliti. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah keadaan larva uji, air medium larva, waktu pengujian, umur larva, lingkungan laboratorium seperti suhu ruangan dan kelembaban.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, pipet tetes, beaker glass, oven, bak plastik, gelas plastik, spektrofotometer, *waterbath*, thermometer, hygrometer, pengaduk, kain kasa, kaca benda, kaca penutup, mikroskop, kamera, kertas saring dan corong bucher, *rotary evaporator*, *Ultrasonic Clearing*, volumetric atau timbangan analitik, lemari es, pisau dan kertas alumunium foil, sendok, gelas pengaduk.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), etanol 50%, 70%, 96% (Teknis/industri), PA (Pro Analisis), eosin, telur nyamuk (*Aedes aegypti* L.) yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Institute of Tropical Disease UNAIR, larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.)

3.5 Definisi Operasional

- a. Toksisitas adalah potensi suatu bahan untuk meracuni tubuh. Dapat juga diartikan sebagai potensi suatu bahan untuk menimbulkan efek negatif terhadap kesehatan (Wicaksono dalam Lukitasari, 2007). Toksisitas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol yang dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 50% dalam waktu 24 jam dan 48 jam.
- b. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) adalah supernatan yang dibuat dari daun sirih dengan pelarut etanol dalam beberapa serial konsentrasi (50%, 70%, 96%, PA). Ekstraksi adalah suatu metode umum yang digunakan untuk mengambil produk dari bahan alami seperti tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang digunakan untuk menarik komponen non polar dengan menggunakan pelarut polar yaitu etanol 50%, 70%, 96%, PA (Pro Analisis).
- c. *Lethal concentration* 50% (LC_{50}) adalah konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol yang dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 50% dalam jangka waktu 24 jam dan 48 jam.
- d. *Lethal Time* 50% (LT_{50}) adalah lama pengujian yang diperlukan agar populasi larva uji mengalami kematian sebesar 50% pada konsentrasi tertentu.
- e. Mortalitas adalah kematian individu-individu selama kurun waktu tertentu dalam suatu populasi yang dihitung dalam presentase (Odum, 1993). Pada penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. (larva instar III akhir sampai instar IV awal) yang mati dengan masa dedah 24 jam dan 48 jam.
- f. Kematian larva *Aedes aegypti* L. dinilai dengan melihat aktivitas gerak larva yaitu dengan menyentuh larva dengan lidi yang lentur. Apabila tidak ada reaksi atau gerakan berarti larva telah mati (Kurniawati, 2004).
- g. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah serangga pradewasa dari nyamuk *Aedes aegypti* L. yang bentuknya sangat berbeda dengan nyamuk dewasa dan merupakan fase aktif makan serta bergerak dalam siklus hidup serangga, dimana yang menjadi

makanannya adalah bahan-bahan organik terlarut dalam air dan mengalami 4 kali pergantian kulit (Molting atau Ecdysis) (Jumar, 2000).

3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel

- a. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini 1240 larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan setiap perlakuan untuk uji pendahuluan tanpa pengulangan dan pengujian akhir dilakukan 3 kali pengulangan. Setiap perlakuan pada uji akhir digunakan 20 ekor larva tiap wadahnya.
- b. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larva nyamuk *Ades aegypti* L. stadium akhir instar III sampai awal instar IV. Pengambilan sampel penelitian dengan cara menghomogenkan larva nyamuk *Ades aegypti* L. akhir instar III sampai awal instar IV dengan ukuran 4-6 mm dan dilakukan identifikasi sifon (alat pernafasan panjang langsir berwarna hitam).

3.7 Desain Penelitian

3.7.1 Persiapan Larva Uji

Untuk mendapatkan larva instar III akhir sampai instar IV awal, dilakukan pemeliharaan mulai dari identifikasi telur, penetasan telur, Pemeliharaan larva dan identifikasi larva uji yang akan diuraikan sebagai berikut :

- a. Identifikasi Telur

Identifikasi telur nyamuk yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Institute of Tropical Disease UNAIR dilakukan dengan cara pengamatan mikroskopis. Pengamatan tersebut meliputi morfologi dari telur *Ades aegypti* L. berupa warna, bentuk, dan susunan pada media penetasan.

- b. Penetasan Telur

Telur nyamuk *Aedes aegypti* L. ditetaskan selama 1-2 hari sejak menjadi telur hingga larva instar I yaitu dengan menyiapkan bak plastik yang berisi aquadest untuk tempat penetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* L., kemudian bak plastik

tersebut ditutup dengan kain *tile*. Memindahkan larva telur nyamuk *Aedes aegypti* L. ke dalam bak plastik yang baru untuk memperoleh umur larva yang relatif sama.

c. Pemeliharaan Larva

Selama pemeliharaan, larva diberi pakan setiap harinya dengan dengan menghaluskan 3 butir pakan untuk 1 bak dengan mortal. Pemberian pakan dilakukan dengan menaburkan pada bagian pojok-pojok bak untuk menjaga salinitas air dalam bak. Untuk menghindari terjadinya fermentasi sisa pakan ikan agar tidak termakan oleh larva maka dilakukan pergantian air setiap harinya dan dilakukan pengamatan pergantian kulitnya sehingga dapat ditentukan stadium larvanya. Larva dipelihara sampai instar III akhir – IV awal dan siap digunakan sebagai larva uji. Larva yang digunakan sebagai larva uji adalah larva yang terseleksi dan homogen (sehat dengan gerakan yang lincah) pada stadium larva instar III akhir – IV awal.

d. Identifikasi Larva

Identifikasi larva uji dilakukan dengan cara melakukan pengamatan mikroskopis morfologi dari larva *Aedes aegypti* L. yang meliputi warna, bentuk, ukuran, rambut lateral dan siphon duri-duri lateral di bawah mikroskop kemudian mencocokkannya dengan buku identifikasi.

3.7.2 Pembuatan Serial Konsentrasi Pelarut etanol Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Tahap pertama dalam pembuatan serial konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu dengan cara sebagai berikut :

a. Pelarut etanol 50%

Untuk membuat pelarut etanol 50% yaitu dengan melarutkan etanol teknis (96%) sebanyak 200 ml ke dalam aquades sebanyak 200 ml.

b. Pelarut etanol 70%

Untuk membuat pelarut etanol 70% yaitu dengan melarutkan etanol teknis (96%) sebanyak 291,666 ml ke dalam aquades sebanyak 108,334 ml.

c. Pelarut etanol 96%

Untuk pelarut etanol 96% tidak diperlukan pencampuran aquades karena etanol 96% merupakan pelarut teknis/industri.

d. Pelarut etanol PA (Pro Analisis)

Larutan yang digunakan adalah larutan yang telah disediakan di laboratorium dengan konsentrasi pelarut etanol 98 %.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Dengan Berbagai Konsentrasi Pelarut Etanol

Tahap pertama dalam pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu dengan tahap persiapan pemilihan daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Daerah Taman Makam Pahlawan kecamatan Patrang kabupaten Jember. Daun yang diambil adalah daun yang terseleksi tidak rusak, cacat atau sobek, daun ketiga dari pucuk hingga pangkal dan telah mencapai kedewasaan yaitu dilihat dari ukuran daun yang sudah maksimal karena menurut Kurniawan (2009) daun yang telah mencapai kedewasaan mempunyai kandungan lebih banyak daripada daun yang masih muda.

Daun sirih dikering anginkan selama 7 hari sampai mencapai berat konstan, di oven selama 1 hari dengan suhu 45°C, hal tersebut bertujuan untuk memastikan kadar air sudah hilang. Kemudian daun sirih diblender menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk. Diambil 100 g serbuk daun sirih lalu dimasukkan kedalam tabung erlenmeyer 500 ml. Kemudian mencampurkan pelarut etanol konsentrasi 50% sebanyak 400 ml kedalam tabung erlenmeyer dan mengaduk serbuk daun sirih agar homogen dengan pelarut dan menutup bagian atas tabung erlenmeyer dengan kertas alumunium foil. Selanjutnya dilanjutkan dengan tahap maserasi dengan menggunakan sonikasi selama 3 jam. Maserasi dengan metode sonikasi yaitu dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat menghancurkan sel daun

sehingga mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut (Dean, 1998).

Ekstrak daun sirih yang dihasilkan disaring dengan corong *bucher* yang dialasi dengan kertas saring. Penguapan pelarut dilakukan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-55 °C dengan tekanan rendah kurang lebih 15 mmHg (antara 1-15 mmHg) hingga berwarna hijau pekat. Melakukan hal yang sama untuk pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi pelarut etanol 70%, 96%, dan PA. Untuk konsentrasi 50% dan 70% ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dilanjutkan dengan proses *water bath* karena membutuhkan proses cukup lama agar menjadi pekat. Kemudian ekstrak tersebut diletakkan pada stoples gelas yang dibungkus dengan kertas alumunium foil dan disimpan di dalam lemari es dan siap untuk digunakan sebagai larvasida. Untuk mendapat konsentrasi sesuai perlakuan ekstrak diencerkan dengan aquades dengan penambahan Tween 80 (0,1%) sebagai pengemulsi. Sebelum diisi dengan ekstrak, stoples gelas ditimbang terlebih dahulu. Selisih antara kedua hasil penimbangan tersebut merupakan berat ekstrak. Ekstrak daun sirih dengan berbagai konsentrasi pelarut tersebut siap digunakan untuk uji hayati.

3.7.4 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan pada uji akhir atau uji sesungguhnya. Pada uji pendahuluan ini bertujuan untuk mencari konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol yang mampu mematikan 5% dan 95% larva uji sehingga digunakan beberapa serial konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) Uji ini dilakukan tanpa ulangan dan hasilnya tidak analisis.

Hasil uji pendahuluan diperoleh konsentrasi yang mematikan 10 % larva sebesar 400 ppm, sedangkan konsentrasi yang mematikan 100% larva sebesar 2000 ppm untuk pelarut etanol 96% dan PA, sedangkan pada pelarut etanol 70% pada 2000

ppm mematikan 80% larva dan pelarut tanol 50% pada 2000 ppm mematikan 60% larva.

Adapun langkah kerja uji pendahuluan adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai awal instar IV
- b. Menyiapkan 6 toples plastik yang diisi air sampai dengan volume 500 ml
- c. Memasukkan masing-masing 1 gram ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol konsentrasi 50%, 70%, 96% dan PA ke dalam masing-masing larutan konsentrasi sedangkan 2 toples lainnya digunakan sebagai kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-).
- d. Memasukkan 10 ekor larva pada masing-masing toples plastik, tanpa ulangan dan ditutup menggunakan kain kasa.
- e. Melakukan penambahan air sebanyak 500 ml setiap 48 jam sekali
- f. Mengamati mortalitas larva dengan melakukan pengamatan setiap 24 jam sekali selama 48 jam. Penentuan larva mati dilakukan dengan menyentuh pipet tetes pada tubuh larva, bila larva disentuh tidak bergerak maka larva dinyatakan mati, sebaliknya bila larva disentuh bergerak maka dinyatakan belum mati. Sedangkan penentuan secara kimia dilakukan dengan meneteskan larutan iodine berwarna pucat/transparan maka larva tersebut benar dalam keadaan mati.

3.7.5 Uji Akhir

Pada tahap uji akhir ditentukan beberapa macam konsentrasi yang akan digunakan dengan berpedoman pada hasil uji pendahuluan. Data yang di dapat dari uji akhir nantinya akan dilakukan analisis. Pada uji akhir digunakan 5 serial konsentrasi tiap jenis konsentrasi pelarut pada ekstrak daun sirih. Pada ekstrak daun sirih konsentrasi etanol 50 % menggunakan 400 ppm, 950 ppm, 1500 ppm, 2050 ppm, 2600 ppm. Pada ekstrak daun sirih konsentrasi etanol 70 % menggunakan 400 ppm, 900 ppm, 1400 ppm, 1900 ppm, 2400 ppm. Pada ekstrak daun sirih konsentrasi etanol 96 % menggunakan 400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm, 1600 ppm, 2000 ppm. Pada

ekstrak daun sirih konsentrasi etanol PA menggunakan 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm, 1200ppm.

Pada uji akhir masing-masing perlakuan menggunakan 20 ekor larva dengan 3 kali ulangan. Selanjutnya pada tahapan uji akhir dilakukan pengamatan morfologi larva yang telah mati serta perkembangan larva nyamuk yang masih hidup sampai berkembang menjadi nyamuk dewasa.

Langkah kerja uji akhir adalah sebagai berikut :

- a. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai awal instar IV
- b. Menyiapkan gelas plastik yang diisi dengan masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirih *Piper betle* L. untuk semua jenis konsentrasi pelarut etanol, abate 1 ppm (K+), air 0 ppm (K-) dan ditambah dengan air sampai mencapai 200 ml.
- c. Memasukkan 20 ekor larva pada masing-masing media dengan berbagai perlakuan yang kemudian ditutup menggunakan kain kasa.
- d. Mengamati jumlah larva *Aedes aegypti* L. yang mati dengan melakukan pengamatan setiap 24 jam sekali selama 48 jam. Larva mati ditandai dengan larva yang tidak bergerak saat disentuh menggunakan ujung pipet tetes, apabila larva masih bergerak saat disentuh maka larva tersebut masih belum mati. Untuk pengamatan kematian larva secara kimia dilakukan dengan meneteskan larutan eosin ke atas larva, apabila larva berwarna pucat atau transparan maka larva tersebut benar-benar dalam keadaan mati.
- e. Menganalisis jumlah larva mati menggunakan analisis probit.

Tabel 3.1 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 50%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam dan 48 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3
K +	K+U1	K+U2	K+U3
EP1	EP1U1	EP1U2	EP1U3
EP2	EP2U1	EP2U2	EP2U3
EP3	EP3U1	EP3U2	EP3U3
EP4	EP4U1	EP4U2	EP4U3
EP5	EP5U1	EP5U2	EP5U3

Keterangan :

- EP 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% dengan konsentrasi 400 ppm
 EP 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% dengan konsentrasi 950 ppm
 EP 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% dengan konsentrasi 1500 ppm
 EP 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% dengan konsentrasi 2050 ppm
 EP 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% dengan konsentrasi 2600 ppm
 K - : Kontrol akuades (0 ppm) + tween 80
 K + : Kontrol abate (100 ppm)
 U : Ulangan

Tabel 3.2 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 70%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam dan 48 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3
K +	K+U1	K+U2	K+U3
EP1	EP1U1	EP1U2	EP1U3
EP2	EP2U1	EP2U2	EP2U3
EP3	EP3U1	EP3U2	EP3U3
EP4	EP4U1	EP4U2	EP4U3
EP5	EP5U1	EP5U2	EP5U3

Keterangan :

- EC 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 400 ppm
 EC 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 900 ppm
 EC 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 1400 ppm
 EC 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 1900 ppm
 EC 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 2400 ppm
 K - : Kontrol akuades (0 ppm) + tween 80

K + : Kontrol abate (100 ppm)
 U : Ulangan

Tabel 3.3 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol 96%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam dan 48 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3
K +	K+U1	K+U2	K+U3
EP1	EP1U1	EP1U2	EP1U3
EP2	EP2U1	EP2U2	EP2U3
EP3	EP3U1	EP3U2	EP3U3
EP4	EP4U1	EP4U2	EP4U3
EP5	EP5U1	EP5U2	EP5U3

Keterangan :

ED 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 400 ppm
 ED 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 800 ppm
 ED 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 1200 ppm
 ED 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 1600 ppm
 ED 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 2000 ppm
 K - : Kontrol akuades (0 ppm) + tween 80
 K + : Kontrol abate (100 ppm)
 U : Ulangan

Tabel 3.4 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut etanol PA

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam dan 48 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3
K +	K+U1	K+U2	K+U3
EP1	EP1U1	EP1U2	EP1U3
EP2	EP2U1	EP2U2	EP2U3
EP3	EP3U1	EP3U2	EP3U3
EP4	EP4U1	EP4U2	EP4U3
EP5	EP5U1	EP5U2	EP5U3

Keterangan :

EP 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA dengan konsentrasi 400 ppm
 EP 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA dengan konsentrasi 600 ppm
 EP 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA dengan konsentrasi 800 ppm

- EP 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA dengan konsentrasi 1000 ppm
EP 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA dengan konsentrasi 1200 ppm
K - : Kontrol akuades (0 ppm) + tween 80
K + : Kontrol abate (100 ppm)
U : Ulangan

3.8 Parameter Yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L diketahui dengan menyentuh pipet tetes pada larva, jika tidak bergerak maka larva mati. Sebaliknya bila larva bergerak larva masih hidup. Kemudian dilakukan pengamatan dengan memberikan tetesan eosin terhadap larva nyamuk yang sudah diberi perlakuan. Secara kimia bila ditetesi larutan eosin tubuhnya berwarna transparan karena sel-sel tubuh nyamuk yang mati tidak dapat menyerap zat warna.
- Perubahan suhu dan kelembaban lingkungan. Pengamatan suhu dilakukan dengan termometer dan pengamatan kelembaban udara dilakukan dengan higrometer. Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan 2 kali setiap dengan interval waktu pengamatan 24 jam.

3.9 Analisis Data

Terdapat beberapa hal yang dianalisis dalam penelitian ini, yaitu :

- Untuk mengetahui persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol dihitung dengan menggunakan rumus Abbot (Boesri dkk., 2001)

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

- Untuk menentukan nilai LC_{50} 24 jam dan LT_{50} 24 jam dari serial konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol digunakan Analisis Probit. *Software* yang digunakan adalah SPSS ver 17.0.

- c. Untuk mengetahui apakah semua perlakuan dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki pengaruh maka dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan taraf signifikansi 95% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan serta untuk menguji perlakuan mana yang memberikan kontribusi besar.



3.10 Alur Penelitian

