



**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DAN
EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Oleh:

**Intania Loren
NIM 120210103021**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DAN
EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh:

Intania Loren
NIM 120210103021

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah SWT. atas segala limpahan rahmat serta hidayah-Nya, shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW. Atas segala kebesaran itu kupersembahkan sebagai rasa hormat dan terima kasih kepada orang-orang yang sangat berarti dalam hidupku.

- 1) Ayahanda Asyu Kue Posyu / Kusno, Ayahanda Busairi, Ibunda Sri Indartik yang selama ini memberikan kasih sayang, dukungan, kesabaran, pengorbanan, perhatian dan lantunan doa yang beliau berikan;
- 2) Ibu Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes. dan Bapak Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si selaku dosen pembimbing yang sangat sabar dalam membimbing sehingga penelitian ini dapat terselesaikan;
- 3) Adik-adikku tersayang Kevin dan Kariza Putrina yang selalu memberi motivasi dan menghibur dalam suka maupun duka;
- 4) Teman-teman seperjuangan “REMPONG” (Fardian Amroini, Nur Faizah, Siti Nurjannah, Arma Desy, Hayatun Nufus dan Eva Rusdiana), terima kasih atas persaudaraan, kebersamaan, dukungan, kenangan dan doanya;
- 5) Teman-teman kost (Kholifatur dan Muslimatin), terimakasih telah memberiku arti hidup mandiri dan saling tolong-menolong;
- 6) Almamater Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember yang saya banggakan.

MOTTO

Hai orang-orang yang beriman, mintalah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan (mengerjakan shalat) sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar

(terjemahan Q.S. Al-Baqarah ayat 153)*

“JIKA TAK BISA MENJADI YANG TERPANDAI, CUKUPLAH MENJADI YANG TERCEPAT. JIKA TAK BISA MENJADI YANG TERPANDAI DAN TERCEPAT CUKUPLAH MENJADI YANG TERBAIK UNTUK DIRI SENDIRI. ”

*

* Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT. Kamudasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Intania Loren

NIM : 120210103021

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Toksistas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan 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 sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Januari 2016

Yang menyatakan,

Intania Loren
NIM. 120210103021

SKRIPSI

**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DAN
BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA
Aedes aegypti L.**

Oleh

Intania Loren

NIM 120210103021

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.

PERSETUJUAN

TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DAN BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh

Nama : Intania Loren
NIM : 120210103021
Tempat dan tanggal Lahir : Situbondo, 15 November 1994
Jurusan/Program : Pendidikan MIPA / Pendidikan Biologi

Disetujui oleh:

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Toksistas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. ini telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Hj. 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

Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd
NIP. 19840223 201012 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Jember

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd
NIP. 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.; Intania Loren, 120210103021; 2015, 75 halaman, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember

Aedes aegypti L. merupakan nyamuk yang dapat berperan sebagai vektor berbagai macam penyakit diantaranya Demam Berdarah Dengue (DBD). Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L. mempunyai kebiasaan berkembang biak (bertelur) ditempat-tempat yang tergenang air dan tidak langsung berhubungan dengan tanah. Penanggulangan penyakit DBD dilakukan dengan jalan memutus rantai perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* L., salah satunya dengan pengasapan (*fogging*) yang menggunakan bahan aktif kimia. Bahan aktif tersebut sudah tidak efektif lagi dalam mengendalikan vektor karena *Aedes* sudah menunjukkan resistensi terhadap beberapa insektisida. Selain itu penggunaan insektisida ini (kimia sintetis) bisa berdampak buruk bagi lingkungan. Untuk itu perlu dicari alternatif penggunaan insektisida yang ramah lingkungan berupa insektisida alami.

Bahan insektisida alami merupakan pengganti terbaik yang dikembangkan untuk pengendalian vektor. Insektisida alami memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah harga yang terjangkau, mudah pembuatannya dan mudah terurai. Beberapa tanaman yang telah banyak digunakan sebagai insektisida alami yaitu daun sirih dan biji srikaya. Daun sirih memiliki kandungan senyawa saponin, alkaloid, tanin, flavonoid dan terpenoid, dimana saponin dapat bekerja sebagai racun kontak, racun perut, racun pernapasan dan racun syaraf. Biji srikaya mempunyai kandungan senyawa annonain, squamosin, alkaloid dan saponin, dimana bekerja sebagai racun kontak dan racun perut. Telah diketahui bahwa masing-masing ekstrak memiliki zat aktif yang berbeda, dimana zat aktif tersebut bersifat toksik terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L.. Apabila dua senyawa toksik yang berbeda dicampur menjadi satu,

dimungkinkan campuran senyawa aktif tersebut bersifat sinergis (saling mendukung) atau antagonis.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui besar toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan LC₅₀ terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dan untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dibandingkan toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) saja atau ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) saja. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai Desember 2015 di Sub Laboratorium Parasitologi Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Jember. Konsentrasi yang digunakan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm. Pada setiap perlakuan menggunakan 20 ekor larva uji dalam 100 ml air dan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.). Pengujian dilakukan 3 kali pengulangan, dengan menggunakan larva sebanyak 360 ekor larva. Data untuk menentukan LC₅₀ diperoleh dengan menggunakan analisis probit.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat disimpulkan bahwa LC₅₀ dalam waktu dedah 24 jam campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah 6,25 ppm. Nilai tersebut lebih rendah bila dibandingkan dengan LC₅₀ ekstrak daun sirih yaitu 820,33 ppm atau LC₅₀ ekstrak biji srikaya yaitu 12,54 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa toksisitas campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya lebih tinggi dibandingkan toksisitas ekstrak daun sirih saja atau ekstrak biji srikaya saja. Dalam penelitian lebih lanjut disarankan menggunakan variasi perbandingan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.).

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas karunia dan kebesarannya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Toksistasitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.” dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak menerima bantuan, bimbingan, serta dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember dan selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
4. Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama yang telah meluangkan waktu dan pikiran, dalam penulisan skripsi ini;
6. Ibu Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran, dalam penulisan skripsi ini;
7. Semua dosen FKIP Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang telah diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;

8. Bapak Tamyis, Kakak Enki dan Kakak Evi selaku teknisi laboratorium di Program Studi Pendidikan Biologi;
9. Ibu Widi dan Ibu Anggra di Farmasi yang telah membantu proses pembuatan ekstrak;
10. Adikku Kevin dan Kariza Putrina yang selalu memberi semangat, doa dan dukungan baik moral dan materi;
11. Teman-teman seperjuangan satu bimbingan skripsi Latif Al Asyari, Moh. Roy, Nur Faizah, Fardian Amroini, Ardiansyah, Henik, Nofi, dan Fanny yang telah saling membantu dan memotivasi satu sama lain;
12. Sahabat dan teman “REMPONG” Fardian Amroini, Nur Faizah, Siti Nurjannah, Hayatun Nufus, Arma Desy, dan Eva Rusdiana yang selalu mendukung, membantu dan menghibur;
13. Teman-teman seperjuangan di Kost Amanah Kholifatur, Muslimatin dan Mbak Veny yang saling membantu, menghibur dan memotivasi;
14. Teman-teman KKMT-POSDAYA SMA DIPONEGORO PANTI 2015 Fardian, Luthfia, Wilujeng, Winda, Fatia, Anas, Radix, Wulan, Arina, Mega, Dimas, Guruh, Firman, Rita dan Ifa yang selalu memberi semangat, motivasi dan kenangan yang tak pernah terlupakan;
15. Teman-teman angkatan 2012 Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember yang memberikan motivasi dan kenangan yang tak pernah terlupakan;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Jember, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSETUJUAN.....	vii
HALAMAN PENGESAHAN.....	viii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	6
2.2 Insektisida Botani.....	18
2.3 Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	19
2.4 Tanaman Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.).....	23
2.5 Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.).....	26
2.6 Kerangka Konsep.....	27
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	31

3.1	Jenis Penelitian.....	31
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.3	Identifikasi Variabel Penelitian.....	31
3.4	Alat dan Bahan Penelitian.....	32
3.5	Kriteria dan Jumlah Sampel.....	32
3.6	Definisi Operasional	33
3.7	Desain Penelitian	34
3.8	Prosedur Penelitian	37
3.9	Analisis Data.....	42
3.10	Alur Penelitian	44
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		45
4.1	Hasil Penelitian	45
4.1.1	Hasil Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	47
4.1.2	Hasil Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	47
4.1.3	Hasil Uji Pendahuluan Toksisitas Campura Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	48
4.1.4	Hasil Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	49
4.1.5	Hasil Uji Akhir Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	50
4.1.6	Hasil Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	52
4.2	Analisis Data.....	53

4.3	Pembahasan.....	54
4.3.1	Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	55
4.3.2	Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	56
4.3.3	Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	57
4.3.4	Gejala Keracunan Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i> Akibat Pengaruh Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>).....	59
4.3.5	Pengaruh Faktor Lingkungan Penelitian terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i>	67
BAB 5.KESIMPULAN DAN SARAN		70
5.1	Kesimpulan	70
5.2	Saran	70
DAFTAR PUSTAKA		71
Lampiran.....		77

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan yang Terdapat di Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>).....	22
3.1 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.	34
3.2 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.	34
3.3 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dengan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.	35
3.4 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.....	35
3.5 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.	36
3.6 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dengan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti L.</i>) dalam masa dedah 24 jam.	36
4.1 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i> pada Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dengan Waktu Dedah 24 jam.....	47
4.2 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti L.</i> pada Uji Pendahuluan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) dengan Waktu Dedah 24 jam...	48
4.3 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedest aegypti L.</i> pada Uji Pendahuluan Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) dan Ekstrak	

Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam	48
4.4 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedest aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam.....	50
4.5 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedest aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam ..	51
4.6 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedest aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam	52
4.7 Analisis Probit LC ₅₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.), Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dan Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Waktu Dedah 24 jam.....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	8
2.2 Karakteristik <i>Aedes aegypti</i> L. dan <i>Aedes albopictus</i> L.....	8
2.3 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L.....	9
2.4 Telur <i>Aedes aegypti</i> L.	10
2.5 Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	12
2.6 Pupa <i>Aedes aegypti</i> L.....	13
2.7 Perbedaan Nyamuk Jantan dan Betina.....	15
2.8 Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	21
2.9 Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.).....	25
2.10 Kerangka Konsep.....	27
4.1 Histogram Rerata Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam.....	50
4.2 Histogram Rerata Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam.....	51
4.3 Histogram Rerata Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dengan Waktu Dedah 24 jam.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian	76
B. Hasil Penelitian	78
B.1 Identifikasi Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	78
B.2.a Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dengan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.)	79
B.2.b Stok Campuran Ekstrak Daun Sirih dan Biji Srikaya (1000 ppm)	79
B.3 Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Sebelum dan Sesudah Diberi Perlakuan Secara Makroskopis.....	80
B.4 Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Sebelum dan Sesudah Diberi Perlakuan Secara Mikroskopis	81
B.5 Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Secara Mikroskopis dengan Uji Kimia Menggunakan Larutan Eosin	82
B.6 Suhu Ruangan (°C) dan Kelembapan Udara (%) Selama Perlakuan	83
C. Dokumentasi Penelitian	84
D. Data Hasil Uji Akhir Pengamatan Mortalitas Larva Uji.....	88
D.1 Mortalitas Larva Uji yang Dipengaruhi Oleh Ekstrak Daun Sirih.....	88
D.2 Mortalitas Larva Uji yang Dipengaruhi Oleh Ekstrak Biji Srikaya.....	88
D.3 Mortalitas Larva Uji yang Dipengaruhi Oleh Campuran Ekstrak Daun Sirih dan Biji Srikaya.	89
E. Analisis Probit LC ₅₀	90
E.1 Analisis Probit LC (<i>Lethal Concentration</i>) Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.) dan Biji Srikaya (<i>Annona</i> <i>squamosa</i> L.)	90
E.2 Analisis Probit LC (<i>Lethal Concentration</i>) Toksisitas Ekstrak Daun	

Sirih (<i>Piper betle</i> L.) saja terhadap mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	92
E.3 Analisis Probit LC (Lethal Concentration) Toksisitas Ekstrak Biji	
Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.)	94

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aedes aegypti L. merupakan nyamuk yang dapat berperan sebagai vektor berbagai macam penyakit diantaranya Demam Berdarah Dengue (DBD). Beberapa spesies dari *Aedes* dapat pula berperan sebagai vektor tetapi *Aedes aegypti* L. tetap merupakan vektor utama (Palgunadi & Rahayu, 2011). *Aedes aegypti* L. dalam siklus hidupnya mempunyai kebiasaan berkembang biak (bertelur) di tempat-tempat yang tergenang air dan tidak langsung berhubungan dengan tanah, pada ban-ban bekas yang tergenang air hujan, kaleng dan botol-botol bekas, vas bunga, tempat minum burung, potongan bambu, dan lain sebagainya. Penanggulangan penyakit DBD dapat dilakukan dengan jalan memutus rantai perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* L.. Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* L. sampai saat ini sering dengan cara pengasapan (*fogging*) yang menggunakan bahan aktif kimia. Bahan aktif tersebut sudah tidak efektif lagi dalam mengendalikan vektor karena *Aedes* sudah menunjukkan resistensi terhadap beberapa insektisida. Selain itu penggunaan insektisida ini (kimia sintetis) bisa berdampak buruk bagi lingkungan (Sudrajat, 2010).

Bahan insektisida alami merupakan pengganti terbaik yang dikembangkan untuk pengendalian vektor. Insektisida alami memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah harga yang terjangkau, mudah pembuatannya dan mudah terurai sehingga aman untuk manusia dan bahkan binatang ternak (Fajri, 2010:2).

Beberapa tanaman yang banyak digunakan sebagai insektisida alami diantaranya daun sirih dan biji srikaya. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa daun sirih mengandung fenol dan senyawa turunannya seperti kavikol dan eugenol, mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, saponin dan minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai larvasida (Universitas Sumatera Utara, 2011). Menurut Kardinan (2000) kandungan zat kimia alami yang terkandung dalam srikaya antara lain *acetogenin* seperti *squamocin*, *bullatacin*, *annonacin* dan *neonnonacin*, mengandung alkaloid, tanin, dan saponin yang bersifat larvasida.

Pada penelitian yang dilakukan Susanto dkk. (2010) bahwa pada konsentrasi 0,989% ekstrak daun sirih dapat membunuh larva hingga 100% sedangkan pada penelitian Aulung, dkk. (2010) tentang daya larvasida ekstrak daun sirih terhadap kematian larva *Aedes aegypti* L., menyatakan bahwa golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun sirih adalah flavanoid, tanin, steroid, yang mampu membunuh larva nyamuk. Hasil penelitian lain Erlita (2012) menunjukkan bahwa perasan daun sirih (*Piper betle* L.) dapat digunakan sebagai larvasida alami karena mengandung eugenol, saponin, flavonoid dan tanin. Penelitian terbaru oleh Marianti (2014) membuktikan bahwa mortalitas larva *Aedes aegypti* L. disebabkan oleh granul ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.).

Pada penelitian uji toksisitas ekstrak biji srikaya terhadap ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang dilakukan oleh Dwi Rimbawani (2010) menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 67% dalam waktu 72 jam. Nilai ini menunjukkan bahwa biji srikaya bersifat toksik. Penelitian lain yang dilakukan oleh Taslimah (2014) menunjukkan bahwa pada nilai *lethal concentration* 50 dari ekstrak biji srikaya terhadap mortalitas *Aedes aegypti* L. sebesar 14,71% atau 14,71 ml / 100ml.

Penelitian yang menggunakan ekstrak campuran dilakukan oleh Prijono. (1999) dalam Isnaeni (2006) bahwa campuran ekstrak biji Annonaceae dan Meliaceae menghasilkan aktifitas larvasida yang tinggi terhadap *C. pavonana* pada konsentrasi 0,25% menggunakan pelarut aseton-metanol (1:1). Penelitian lain seperti Ginting (2003) melaporkan bahwa beberapa ekstrak campuran dari famili Meliaceae dan Menispermaceae memiliki mortalitas yang tinggi terhadap larva uji. Famili tumbuhan yang dianggap merupakan sumber potensial insektisida botani adalah Meliaceae, Annonaceae, Aesraceae, Piperaceae dan Rustaceae (Mariani, 2014).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dipaparkan diatas baik penelitian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) maupun ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) telah diketahui masing masing ekstrak memiliki zat aktif yang bersifat toksik terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L.. Apabila dua senyawa toksik yang berbeda tersebut dicampur menjadi satu, dimungkinkan campuran

senyawa aktif tersebut bersifat sinergis atau antagonis. Hal ini diperkuat dengan pendapat Priyono (1999) dalam Isnaeni (2006) bahwa pencampuran beberapa senyawa aktif tumbuhan dapat memberikan efek seperti sinergis, antagonis, atau netral. Dalam suatu ekstrak tumbuhan, selain beberapa senyawa aktif utama biasanya juga terdapat banyak senyawa lain yang kurang aktif, namun keberadaannya dapat meningkatkan aktivitas ekstrak secara keseluruhan (sinergi). Sinergis memberi arti bahwa kedua senyawa tersebut dapat meningkatkan daya toksisitas yang ditandai dengan semakin kecil nilai konsentrasi yang diperlukan untuk mematikan larva, sedangkan antagonis memberi arti bahwa kedua senyawa tidak dapat meningkatkan daya toksisitas. Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian mengenai “Toksitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu.

- a. Berapakah besar LC₅₀ dalam waktu 24 jam toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.?
- b. Bagaimana toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dibandingkan dengan toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) saja atau ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) saja terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Untuk menganalisis besarnya LC₅₀ dalam waktu 24 jam toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
- b. Untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dibandingkan dengan toksisitas

ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) saja atau ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) saja. terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi berbagai pihak, sebagai berikut.

- a. Manfaat akademik, sebagai sumber informasi dan bahan masukan sivitas akademika selanjutnya tentang toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva *Aedes aegypti* L.
- b. Manfaat secara umum, dapat memberikan informasi mengenai upaya pemberantasan vektor penyakit demam berdarah yaitu nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan menggunakan campuran ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan biji Srikaya (*Annona squamosa* L.).
- c. Manfaat bagi penulis, dapat mengaplikasikan ilmu pengetahuan yang telah didapat selama proses perkuliahan, memperluas ilmu pengetahuan, menjadi pengalaman berharga dan ikut serta dalam meningkatkan kualitas ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan upaya pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor penyakit demam berdarah di Indonesia.

1.5 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini, ruang lingkup permasalahan dibatasi dengan beberapa batasan masalah antara lain:

- a. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang dipakai adalah larva instar III akhir-IV awal dengan ciri-ciri memiliki ukuran panjang 4-6 mm, duri di dada sudah jelas dan corong pernapasan berwarna hitam yang terseleksi sehat dan lincah. Tahap instar III akhir – IV awal larva *Aedes aegypti* L. digunakan dalam penelitian atas pertimbangan pada tahap instar tersebut alat-alat tubuh nyamuk telah lengkap (duri-durinya) dan larva bersifat relatif stabil terhadap pengaruh luar (Depkes RI, 1986 dalam Radjasa, dkk., 2003)

- b. Daun sirih (*Piper betle* L.) yang dipakai dalam penelitian ini dibeli di pasar Tanjung Jember dan telah terseleksi tidak berwarna kuning, tidak terdapat ulat, tidak rusak, cacat dan sobek.
- c. Biji srikaya (*Annona squamosa* L.) yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari srikaya yang dibeli di Kabupaten Situbondo dan telah terseleksi tidak berlubang, tidak berjamur dan tidak terdapat ulat.
- d. Pelarut yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah etanol 97%.
- e. Kematian larva ditunjukkan dengan tidak adanya gerakan pada saat disentuh dengan pipet tetes dan tenggelam pada dasar gelas.
- f. Campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah 1 : 1.
- g. Toksisitas hanya pada besarnya konsentrasi yang dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan diptera bersayap dua yang berasal dari famili culicidae dimana famili ini mencakup sekitar 3000 spesies yang sudah diketahui. *Aedes* sering disebut juga dengan nyamuk kebun, karena banyak ditemukan di kebun dan halaman rumah. *Aedes* yang ditemukan ±125 spesies (jenis), dua diantaranya *A. Aegypti* dan *A. Albopictus* (Fajri, 2010:6). Nyamuk yang termasuk ke dalam genus *aedes* mempunyai distribusi kosmopolit. Nyamuk ini berkembangbiak dalam lubang pohon dan di dalam genangan air yang bersifat sementara dan berisi air tawar (Brown, 1979:417).

2.1.1 Sistematika Taksonomi *Aedes aegypti* L.

Larva *Aedes aegypti* L. diklasifikasikan ilmiah (taksonomi) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Hexapoda
Class	: Insecta
Subclass	: Pterygota
Order	: Diptera
Suborder	: Nematocera
Family	: Culicidae
Subfamily	: Culicinae
Genus	: <i>Aedes</i>
Species	: <i>Aedes aegypti</i> L. (ITIS, 2015)

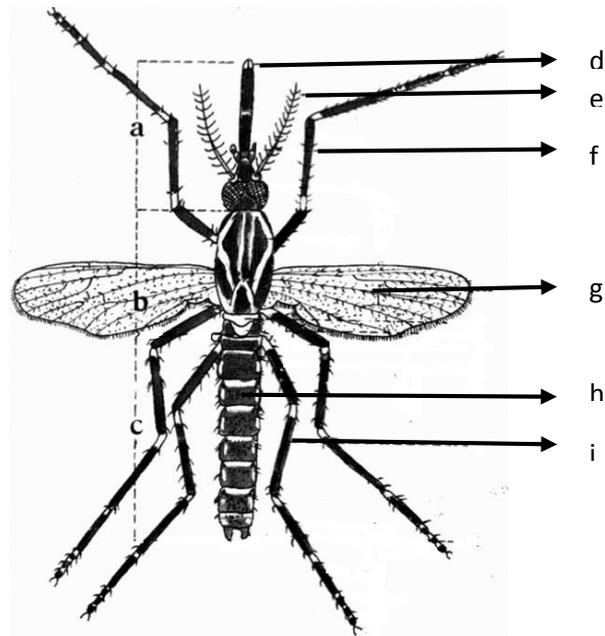
2.1.2 Morfologi *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. dikenal dengan sebutan *Black White Mosquito* atau *Tiger Mosquito* karena tubuhnya memiliki ciri yang khas yaitu adanya garis-garis dan bercak-bercak putih keperakan di atas dasar warna hitam, sedangkan yang

menjadi ciri khas utamanya adalah ada dua garis lengkung yang berwarna putih keperakan di kedua sisi lateral dan dua buah garis putih sejajar di garis median dari punggungnya yang berwarna dasar hitam (*lyre shaped marking*) (Palgunadi, 2011). Nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa lebih kecil jika dibandingkan dengan ukuran nyamuk rumah (*Culex quinquefasciatus*), mempunyai warna dasar yang hitam dengan bintik putih pada bagian badannya terutama pada bagian kakinya (Depkes RI, 2007).

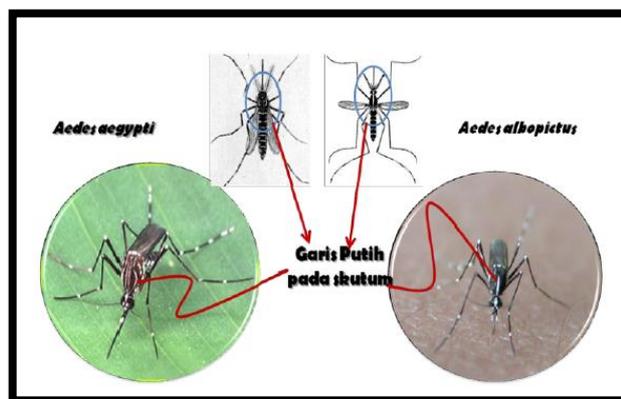
Tubuh nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa dibagi menjadi kepala (*caput*), dada (*thoraks*) dan perut (*abdomen*) yaitu :

- 1) Kepala (*caput*) berbentuk seperti bola dan tertutup oleh sepasang mata faset dan tidak mempunyai mata oselus dan mata biasa. Kepala nyamuk juga tersusun atas antena yang panjangnya melebihi panjang dari palpus maksila, alat mulut nyamuk betina tipe penusuk penghisap terdiri dari labium bagian bawah yang mempunyai saluran dan bagian atas *labrum epipharynk*, *hypopharynk*, sepasang mandibular serupa pisau dan *maxilia* yang bergerigi sedangkan jantan bagian mulutnya lebih lemah tidak mampu menembus kulit manusia sehingga digolongkan kedalam pemakan tumbuh-tumbuhan atau cairan tanaman, mata majemuk menyolok.
- 2) Dada (*thoraks*), terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggung (*mesonotum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain. Gambaran punggung nyamuk *Aedes aegypti* L. berupa sepasang garis lengkung putih pada tepinya dan sepasang garis sub median ditengahnya. Pasangan kaki ada yang panjang dan pendek. Femur bersisik putih pada permukaan posterior dan setengah basal, anterior dan tengah bersisik putih memanjang. Tibia semuanya hitam dan tarsi belakang berlingkaran putih pada segmen basal kesatu sampai keempat dan segmen kelima berwarna putih. Sayap berukuran 2,5-3,0 mm bersisik hitam.
- 3) Perut (*abdomen*), tersusun atas 8 segmen, segmen VIII nyamuk jantan lebar dan berbentuk kerucut sedang pada nyamuk betina segmen VIII agak meruncing dengan sersi menonjol. Waktu istirahat posisi nyamuk *Aedes aegypti* L. ini tubuhnya sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapinya (Fajri, 2010:12).



Gambar 2.1 Morfologi Nyamuk *Aedes aegypti* L. a. kepala; b. dada; c. perut; d. *proboscis*; e. antena; f. tungkai depan; g. sayap; h. punggung; i. tungkai belakang (Sumber: Supartha, 2008)

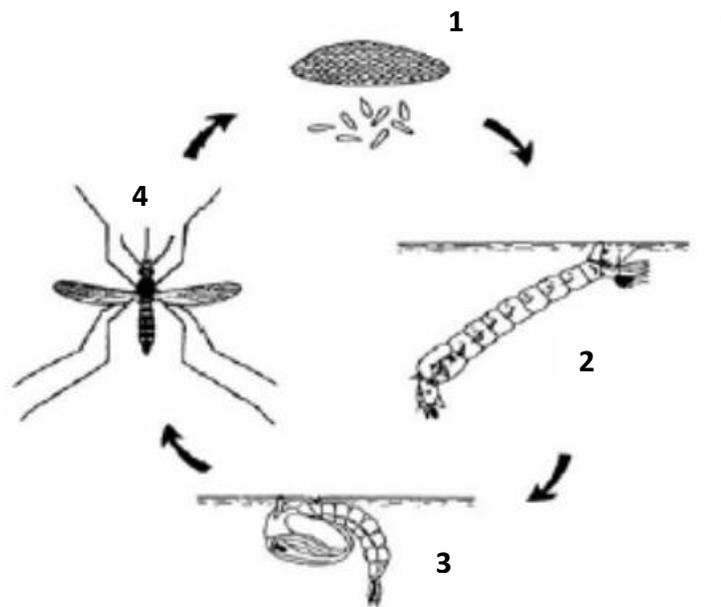
Nyamuk dewasa *Aedes albopictus* L. dengan *Aedes aegypti* L. keduanya sangat mirip, namun dapat dibedakan dari strip putih yang terdapat pada bagian skutumnya. Skutum *Aedes aegypti* L. berwarna hitam dengan dua strip putih sejajar di bagian dorsal tengah yang diapit oleh dua garis lengkung berwarna putih. Sementara skutum *Aedes albopictus* L. juga berwarna hitam tetapi hanya beirisi satu garis putih tebal di bagian dorsalnya (Supartha, 2008).



Gambar 2.2 Karakteristik *Aedes aegypti* L. dan *Aedes albopictus* L. (Sumber: Supartha, 2008)

2.1.3 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk penular demam berdarah dengue (*Aedes aegypti* L.) dalam siklus hidupnya mengalami perubahan bentuk (metamorphose) sempurna yaitu dari telur, jentik (larva), kepompong (pupa) dan nyamuk dewasa (Sayono *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L. 1. Telur; 2. Larva; 3. Pupa; 4. Nyamuk Dewasa (Sumber: Supartha, 2008)

Nyamuk *Aedes aegypti* L. mengalami metamorfosis sempurna, artinya daur hidupnya mengalami perubahan bentuk dari telur, larva, pupa (kepompong), dan dewasa. Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L. masing-masing tahap akan dijelaskan sebagai berikut:

a. Telur

Selama masa bertelur, seekor nyamuk betina mampu meletakkan 100-400 butir telur. Telur-telur tersebut diletakkan dibagian yang berdekatan dengan permukaan air. Setiap kali nyamuk betina bertelur, mengeluarkan telur ± 100 butir yang diletakkan satu-satu pada dinding ovitrap yang telah diberi kertas saring yang awalnya berwarna putih kemudian berubah menjadi hitam (Supartha, 2008).

Telur *Aedes aegypti* L. tidak mempunyai pelampung dan diletakkan satu persatu di atas permukaan air. Ukuran panjangnya 0,80 mm, dibungkus dalam kulit yang berlapis tiga dan mempunyai saluran spermatozoa. Telur *Aedes aegypti* L. dalam keadaan kering dapat tahan bertahun-tahun lamanya. Telur berbentuk elips dan mempunyai permukaan yang polygonal. Telurnya tidak akan menetas sebelum digenangi air dan telur akan menetas dalam waktu satu sampai tiga hari pada suhu 30°C tetapi membutuhkan tujuh hari pada suhu 16°C (Supartha, 2008).

Telur *Aedes aegypti* L. berwarna hitam, berbentuk seperti torpedo, oval memanjang, elips dan mempunyai permukaan yang polygon. Berbeda halnya dengan telur nyamuk vektor lainnya seperti telur *Anopheles* menyerupai perahu dengan pelampung dari *Chorion* yang berlekung di sebelah lateral sedangkan telur *Culex* berbentuk meruncing dengan puncak berupa mangkok melekat satu sama lain menyerupai rakit. Apabila telur *Culex* ini dilihat di bawah mikroskop, maka akan tampak gambaran seperti sarang lebah pada dinding luarnya (Borror *et al.*, 1992:671).



Gambar 2.4 Telur *Aedes aegypti* L.
(Sumber: Supartha, 2008)

b. Larva

Larva adalah bentuk serangga muda antara telur dan pupa pada serangga dengan metamorfosis holometabol. Secara umum larva memiliki ciri-ciri tidak

memiliki tunas sayap dan tanpa mata majemuk dengan bentuk tubuh yang berbeda dengan serangga dewasa (Jumar, 2000:76).

Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terdiri atas kepala, toraks dan abdomen. Kepala berkembang baik sepasang antena maupun kepala majemuk, serta sikat mulut yang menonjol. Abdomen terdiri dari 9 ruas yang jelas, dan ruas terakhir dilengkapi tabung udara (*siphon*) untuk mengambil oksigen dan dilengkapi dengan pectin pada segmen yang terakhir dengan ciri pendek dan mengembung. Pada segmen abdomen tidak terdapat rambut berbentuk kipas (*Palmatus hairs*) pada setiap sisi abdomen segmen kedelapan terdapat *comb scale* sebanyak 8-21 atau berjajar 1 sampai 3 dan berbentuk duri. Pada sisi *thorax* terdapat duri yang panjang dengan bentuk kurva dan adanya sepasang rambut dikepala. Larva memperoleh makanan dengan bantuan sikat mulut yang berfungsi untuk menghasilkan aliran air yang dapat membawa makanan ke dalam mulut (Marianti, 2014).

Tubuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terbagi menjadi tiga bagian, yaitu:

- 1) Kepala (*caput*), terletak di anterior dan terdapat antena di sebelah samping bagian depan mata yang dilengkapi dengan rambut-rambut. Mulut terletak di ujung bawah bagian samping saling berhadapan, berfungsi untuk memegang, mengunyah dan menelan makanan (Taslimah, 2014).
- 2) Dada (*thorax*), berukuran lebih besar dari pada kepala dan perut (Palgunadi & Rahayu, 2011).
- 3) Perut (*abdomen*), berukuran lebih panjang dan terdiri dari 9 segmen yaitu segmen I-VII berukuran hampir sama. Segmen VIII-IX mengalami banyak modifikasi, pada segmen VIII terdapat spirakel yang menonjol, pendek dan gelembung yang disebut sifon atau tabung udara yang berfungsi sebagai saluran pernapasan. Segmen IV terdapat insang ekor (*anal gills*) yang terbentuk lonjong dan membranous berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dalam respirasi (Grantham dalam Fajri, 2010).

Stadium larva terdiri dari empat instar dan berlangsung selama 7-9 hari. Selama perkembangan larva terjadi pertambahan ukuran dari instar I-IV yaitu 0.3-0.95 mm. Jangka waktu perkembangan larva tergantung pada suhu, keberadaan makanan, dan kepadatan larva dalam wadah. (Lestari, 2011).

Ada 4 tingkatan perkembangan (instar) larva *Aedes aegypti* L. sesuai dengan pertumbuhan larva yaitu :

- 1) Larva instar I : Ukuran sekitar 1-2 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas dan pada corong pernapasan masih belum jelas dan berlangsung 1-2 hari.
- 2) Larva instar II : Ukuran 2,5-3,5 mm, duri-duri belum jelas dan corong pernapasan mulai menghitam berlangsung 2-3 hari.
- 3) Larva instar III : Ukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman. Pada instar III ini memiliki sifon yang gemuk, gigi sisir pada segmen abdomen ke-8 mengalami pergantian kulit dan berlangsung 3-4 hari.
- 4) Larva instar IV : Ukuran 5-6 mm, dengan warna kepala gelap. Corong pernapasan pendek dan gelap kontras dengan warna tubuhnya, setelah 2-3 akan mengalami pergantian kulit dan berubah menjadi pupa berlangsung selama 2-3 hari (Marianti, 2014).

Stadium larva merupakan stadium sangat aktif makan dan bergerak. Larva bergerak sangat lincah yaitu sangat aktif membuat gerakan ke atas dan ke bawah jika air terguncang. Apabila sedang istirahat, larva akan diam dan tubuhnya akan membentuk sudut terhadap permukaan air dan sifonnya ditonjolkan ke arah permukaan air (Kardinan, 2000:3).



Gambar 2.5 Larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
(Sumber: Bishan, 2009)

c. Pupa

Pupa adalah bentuk tidak makan, namun tampak gerakannya lincah apabila dibandingkan dengan larva. Pupa nyamuk kebanyakan akuatik dan tidak seperti kebanyakan pupa serangga, pupa *Aedes aegypti* L. sangat aktif dan sering kali disebut akrobat (*tumblers*). Pupa mempunyai terompet untuk bernapas pada thoraks, suatu kantung udara yang terletak diantara bakal sayap pada bentuk dewasa dan terdapat pengayuh yang berupah rambut-rambut yang saling menutupi pada ujung ruas abdomen terakhir. Pengayuh ini memungkinkan pupa menyelam dengan cepat, dengan mengadakan serangkaian jungkiran sebagai reaksi terhadap rangsangan (Borror, 1992:670-674).

Pupa merupakan stadium terakhir yang berada dalam air dan tidak memerlukan makanan karena merupakan fase istirahat. Pupa mempunyai segmen-segmen pada bagian perutnya (struktur menyerupai dayung) sehingga terlihat menyerupai koma. Kepala dan dadanya menyatu dilengkapi dengan sepasang terompet pernafasan. Pupa memiliki daya apung yang besar. Pupa biasanya istirahat dipermukaan air dengan posisi statis tetapi dapat berenang dengan baik. Fase pupa membutuhkan 2-5 hari akan muncul nyamuk dewasa (Hadi *et al.*, 2009: 4). Total siklus yang dapat diselesaikan 9-12 hari. Pada fase pupa belum ada perbedaan antara jantan dan betina. Pada umumnya nyamuk jantan menetas terlebih dahulu dari pada nyamuk betina dan selanjutnya keluar dari air dan berkembang menjadi nyamuk (Mulyatno, 2011).



Gambar 2.6 Pupa *Aedes aegypti* L.
(Sumber: Supartha, 2008)

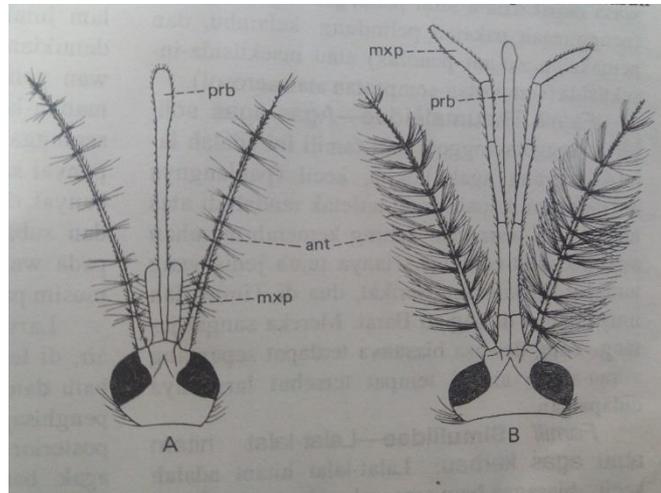
d. Dewasa (Imago)

Tubuh nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa dibagi menjadi tiga bagian yaitu :

- 1) Kepala (*caput*) berbentuk seperti bola dan tertutup oleh sepasang mata faset dan tidak mempunyai mata oselus dan mata biasa. Kepala nyamuk juga tersusun atas antena yang panjangnya melebihi panjang dari palpus maksila, alat mulut nyamuk betina tipe penusuk penghisap sedangkan jantan bagian mulutnya lebih lemah sehingga tidak mampu menembus kulit manusia, mata majemuk menyolok (Grantham dalam Fajri, 2010:7).
- 2) Dada (*thoraks*), terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggung (*mesonotum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain. Gambaran punggung nyamuk *Aedes aegypti* L. berupa sepasang garis lengkung putih pada tepinya dan sepasang garis sub median ditengahnya. Pasangan kaki ada yang panjang dan pendek. Femur bersisik putih pada permukaan posterior dan setengah basal, anterior dan tengah bersisik putih memanjang. Tibia semuanya hitam dan tarsi belakang berlingkaran putih pada segmen basal kesatu sampai keempat dan segmen kelima berwarna putih. Sayap berukuran 2.5-3.0 mm bersisik hitam (Sodarmono dalam Fajri, 2010:11).
- 3) Perut (*abdomen*), tersusun atas 8 segmen, segmen VIII nyamuk jantan lebar dan berbentuk kerucut sedang pada nyamuk betina segmen VIII agak meruncing dengan sersi menonjol. Waktu istirahat posisi nyamuk *Aedes aegypti* L. ini tubuhnya sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapinya (Fajri, 2010:12).

Imago yang lebih awal keluar adalah jantan yang sudah siap melakukan kopulasi bila betinanya muncul belakangan. Imago betina membutuhkan cairan darah sebelum meletakkan telurnya yang fertil. Cairan darah itu diperlukan oleh imago betina setiap akan meletakkan sejumlah telurnya. Siklus pengisapan darah itu dilakukan setiap akan meletakkan telur, sehingga pengisapan cairan darah itu dapat dilakukan berkali-kali selama hidupnya. Nyamuk jantan dan betina tidak memiliki perbedaan dalam hal ukuran, nyamuk jantan pada umumnya lebih kecil dari pada betina dan terdapat rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan.

Nyamuk betina mempunyai antena tipe pilose, sedangkan nyamuk jantan tipe plumose (Supartha, 2008).



Gambar 2.7 Struktur Kepala pada Nyamuk. A) Nyamuk *Aedes aegypti* L. Betina; B) Nyamuk *Aedes aegypti* L. Jantan. Ant, sungut; mxp, palpus maksilla; prb, probosis (Sumber: Borrow, 1992)

Nyamuk *Aedes aegypti* L. seperti halnya culicines lain, meletakkan telur pada permukaan air bersih secara individual. Setiap hari nyamuk *Aedes* betina dapat bertelur rata-rata 100 butir. Setelah kira-kira dua hari telur menetas menjadi larva lalu mengadakan pengelupasan kulit sebanyak empat kali, tumbuh menjadi pupa dan akhirnya menjadi dewasa. Faktor biotik seperti predator, kompetitor dan makanan yang berinteraksi dalam kontainer sebagai habitat akuatiknya pradewasa juga sangat berpengaruh terhadap keberhasilannya menjadi imago. Keberhasilan itu juga ditentukan oleh kandungan air kontainer seperti bahan organik, komunitas mikroba, dan serangga air yang ada dalam kontainer itu juga berpengaruh terhadap siklus hidup *Aedes aegypti* L. (Sitiqoniat, 2013).

2.1.4 Habitat dan Perilaku Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Tempat perkembangbiakan utama vektor demam berdarah yaitu tempat-tempat penampungan air berupa genangan air yang tertampung di suatu tempat atau bejana di dalam atau sekitar rumah atau tempat-tempat umum, biasanya tidak melebihi jarak 500 meter dari rumah. Nyamuk ini biasanya tidak dapat berkembangbiak di genangan air yang langsung berhubungan dengan tanah.

Sedangkan jenis tempat perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* L. dapat dikelompokkan sebagai berikut.

- a. Tempat penampungan air (TPA) untuk keperluan sehari-hari, seperti drum, tangki reservoir, tempayan, bak mandi dan ember.
- b. Tempat penampungan air bukan untuk keperluan sehari-hari seperti tempat minum burung, vas bunga, perangkap semut dan barang-barang bekas seperti ban, kaleng, botol, plastik.
- c. Tempat penampungan air alamiah seperti lobang pohon, lobang batu, pelepah daun, tempurung kelapa dan potongan bambu (Palgunadi & Rahayu, 2011).

Berdasarkan data dari Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2005 yang dikutip oleh Supartha (2008), tempat perkembangbiakan utama nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah tempat-tempat penampungan air bersih di dalam atau di sekitar rumah, berupa genangan air yang tertampung di suatu tempat atau bejana seperti bak mandi, tempayan, tempat minum burung, dan barang-barang bekas yang dibuang sembarangan yang pada waktu hujan akan terisi air. Nyamuk ini tidak dapat berkembang biak di genangan air yang langsung berhubungan dengan tanah.

Nyamuk setelah menetas akan istirahat di kulit kepompong untuk sementara waktu, kemudian setelah sayap meregang menjadi kaku, nyamuk mampu terbang mencari mangsa/darah. Nyamuk *Aedes aegypti* L. jantan mengisap cairan tumbuhan atau sari bunga untuk keperluan hidupnya, sedangkan yang betina mengisap darah. Nyamuk betina ini lebih menyukai darah manusia dari pada binatang (*antropofilik*). Darah diperlukan untuk mematangkan telur, agar jika dibuahi oleh sperma nyamuk jantan dapat menetas. Waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan perkembangan telur mulai dari nyamuk mengisap darah sampai telur dikeluarkan biasanya bervariasi antara 3-4 hari, jangka waktu ini yang disebut dengan satu siklus gonotropik (Sayono *et al.*, 2012). Nyamuk demam berdarah betina mengisap darah untuk proses pematangan telur dan nyamuk jantan tidak memerlukan darah, tetapi mengisap sari bunga atau nektar (Hadi *et al.*, 2009:4).

Kebiasaan nyamuk betina mencari mangsa di siang hari. Aktivitas menggigit dimulai pada pagi sampai petang hari, dengan dua puncak aktifitas antara pukul 09.00-10.00 dan 16.00-17.00 tidak seperti nyamuk lain (Depkes RI, 2007).

Aedes aegypti L. mempunyai kebiasaan mengisap darah berulang kali (*multiple bites*) dalam satu siklus gonotropik, untuk memenuhi lambungnya dengan darah. Dengan demikian nyamuk ini sangat efektif sebagai penular penyakit. Setelah mengisap darah, nyamuk akan hinggap (beristirahat) di dalam atau di luar rumah berdekatan dengan tempat perkembangbiakannya. Biasanya di tempat yang agak gelap dan lembab, untuk menunggu proses pematangan telurnya. Setelah beristirahat dan proses pematangan telur selesai, nyamuk betina akan meletakkan telurnya di dinding sedikit di atas permukaan air (Supartha, 2008). Pada umumnya telur akan menetas menjadi jentik dalam waktu 2 hari setelah telur terendam air. Setiap kali bertelur nyamuk betina dapat mengeluarkan telur sebanyak 100 butir. Telur di tempat yang kering (tanpa air) dapat bertahan berbulan-bulan pada suhu - 2 sampai 42 derajat celcius dan apabila tempat tersebut tergenang air atau kelembabannya tinggi maka telur dapat menetas lebih cepat (Palgunadi & Rahayu, 2011).

Nyamuk menurut Brown (1979:419) tertarik dengan cahaya terang, pakaian berwarna gelap dan oleh adanya manusia dan hewan. Daya penarik jarak jauh disebabkan karena perangsangan bau dari zat-zat yang dikeluarkan hewan, khususnya CO₂ dan beberapa asam amino dan dilokalisasi dekat pada suhu hangat dan kelembapan. Nyamuk dewasa biasanya aktif selama waktu senja atau pada waktu malam, atau tempat-tempat yang sangat terlindung. Biasanya nyamuk betina aktif menghisap darah manusia dan binatang sepanjang siang hari, terutama pada jam 08.00-12.00 dan jam 15.00-17.00 WIB. Pada malam hari nyamuk *Aedes aegypti* L. aktif lagi menghisap darah. Nyamuk *Aedes aegypti* L. hanya hidup selama 10 hari di alam terbuka dan jarak terbangnya pendek sekitar 40 meter.

Waktu keaktifan mencari darah masing-masing nyamuk berbeda-beda, nyamuk aktif menggigit pada malam hari adalah Anopheles dan Culex sedangkan nyamuk yang aktif menggigit pada siang hari yaitu Aedes. Khusus untuk anopheles, nyamuk ini bila menggigit mempunyai perilaku bila siap menggigit langsung keluar rumah. Pada umumnya nyamuk yang menghisap darah adalah nyamuk betina (Palgunadi & Rahayu, 2011).

2.2 Insektisida Botani

Insektisida merupakan semua bahan kimia yang dapat membunuh serangga, dan menurut perundang-undangan juga mencakup bahan kimiawi lainnya yang dapat mempengaruhi perilaku serangga, pertumbuhan, perkembangan, sistem pencernaan, sistem hormon yang berujung pada kematian serangga. (Gandahusada, 1998). Berdasarkan cara kerja Insektisida dalam tubuh serangga dikenal istilah *mode of action* dan cara masuk atau *mode of entry*. *Mode of action* adalah cara insektisida memberikan pengaruh melalui titik tangkap (*target site*) di dalam tubuh serangga. Titik tangkap pada serangga biasanya berupa enzim atau protein. Beberapa jenis insektisida dapat mempengaruhi lebih dari satu titik tangkap pada serangga. Cara kerja insektisida yang digunakan dalam pengendalian vektor terbagi dalam 5 kelompok yaitu: mempengaruhi sistem saraf, menghambat produksi energi, mempengaruhi sistem endokrin, menghambat produksi kutikula dan menghambat keseimbangan air (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2012).

Mode of entry adalah cara insektisida masuk ke dalam tubuh serangga, dapat melalui kutikula (racun kontak), alat pencernaan (racun perut), atau lubang pernafasan (racun pernafasan). Meskipun demikian suatu insektisida dapat mempunyai satu atau lebih cara masuk ke dalam tubuh serangga (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2012)

Penggolongan insektisida berdasarkan cara masuknya kedalam serangga dibagi menjadi tiga yaitu, racun kontak, racun perut, dan racun pernafasan. Racun kontak adalah insektisida yang masuk kedalam tubuh serangga melalui kulit, celah/lubang alami pada tubuh atau langsung mengenai mulut serangga. Racun perut merupakan suatu insektisida yang membunuh serangga sasaran bila masuk ke dalam organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding saluran pencernaan. Dikatakan racun pernafasan jika suatu insektisida dapat membunuh serangga sasaran bila masuk ke dalam organ pernafasan serangga (Gandahusada, 1998).

Secara garis besar terdapat empat cara pengendalian vektor yakni secara kimiawi, biologi, radiasi dan mekanik. Pengendalian secara kimiawi dengan menggunakan insektisida dapat ditujukan terhadap nyamuk dewasa maupun larva. Insektisida untuk nyamuk dewasa *Aedes aegypti* L. antara lain dari golongan

organochlorine, organophosphor, carbamate dan pyrethroid. Insektisida tersebut dapat diaplikasikan dalam bentuk *spray* terhadap rumah-rumah penduduk atau dengan pengasapan (*fogging*). Sedangkan insektisida untuk larva *Aedes aegypti* L. yaitu dari golongan organophospor (*Temephos*) dalam bentuk *sand granules*. Insektisida tersebut dapat mempengaruhi sistem saraf pusat larva sehingga larva mengalami kematian (Palgunadi & Rahayu. 2011).

Pemberantasan vektor penyakit dengan menggunakan zat kimia memang dapat menekan populasi larva dengan baik, namun dapat menimbulkan resistensi larva, pencemaran lingkungan, dan keracunan. Organisasi kesehatan dunia (WHO) sejak tahun 1985 menganjurkan untuk mencari terobosan baru, yaitu dengan pengendalian hayati atau pengendalian lingkungan. Salah satunya adalah penggunaan zat kimia alami yang berasal dari tumbuhan atau bioinsektisida.

Insektisida botani atau nabati merupakan senyawa beracun yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Penggunaan insektisida botani dimasukkan sebagai alternatif dan meminimalkan penggunaan insektisida kimia sehingga kerusakan lingkungan dapat dikurangi (Fajri, 2010:20). Insektisida botani mempengaruhi serangga melalui berbagai macam cara, antara lain menghambat perkembangan telur, larva, pupa, menghambat pergantian kulit pada stadium larva, mengganggu kopulasi, komunikasi seksual serangga, penolak makan, mencegah betina untuk meletakkan telur, menghambat reproduksi atau membuat serangga mandul, meracuni larva dan mengurangi nafsu makan atau memblokir kemampuan makan serangga (Kardinan, 2000). Famili tumbuhan yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai insektisida nabati terhadap serangga diantaranya adalah Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, dan Piperaceae.

2.3 Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Sirih merupakan tanaman merambat yang termasuk famili piperaceae mencapai ketinggian hingga 15 m dan mempunyai batang berwarna coklat kehijauan yang beruas-ruas sebagai tempat keluarnya akar. Daun berbentuk jantung, tumbuh secara selang-seling, bertangkai dan memiliki daun pelindung. Jika diremas, daun akan mengeluarkan aroma yang sedap. Bunga berupa bulir,

terdapat di ujung cabang dan berhadapan dengan daun. Buah sirih berbentuk bulat dan berbulu.

Varietas yang banyak digemari dan dijual dibanyak tempat adalah sirih Jawa yang warna daunnya hijau rumput atau kekuning-kuningan dan kalau dikunyah rasanya pedas. Di Indonesia, terdapat 4 macam sirih yaitu 1) daun sirih berwarna hijau tua, rasa pedas merangsang (banyak terdapat di Jawa Tengah dan Jawa Timur), 2) daun sirih berwarna kuning (banyak terdapat di Sumatera dan Jawa Barat), 3) sirih kaki meranti, daun berwarna kuning dengan tulang daun merah, dan 4) sirih hitam yang ditanam khusus untuk obat (Aini, 2012).

2.3.1 Sistematika Taksonomi Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari daun sirih adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Super Division:	Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Magnoliidae
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle</i> L. (Plantamor, 2012).

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

Sirih hidup subur di daerah tropis dengan ketinggian 300-1000 meter di atas permukaan laut terutama di tanah yang banyak mengandung bahan organik dan air. Sirih secara umum termasuk tumbuhan memanjat dan tumbuh merambat (Santosa dkk, 2010). Daunnya berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, tepi rata, teksturnya agak kasar, mengkilat, tidak berbulu dan mengeluarkan bau jika diremas. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Batangnya berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat dan kerucut. Batangnya juga bersulur dan beruas

dengan jarak buku 5-10 cm dan di setiap buku tumbuh bakal akar. Sirih dapat diperbanyak secara vegetatif dengan penyetekan atau pencangkakan. Umumnya sirih dapat tumbuh tanpa pemupukan agar dapat tumbuh subur hanya butuh pengairan dan cahaya matahari 60-75% (Sudewo, 2007). Organ akar pada tanaman sirih digolongkan sebagai akar tunggang, bentuknya bulat dan warnanya coklat dengan sedikit menjurus pada warna kuning khas akar lainnya (Fais & Saifullah, 2014).

Bunganya majemuk berbentuk bulir dan terdapat daun pelindung \pm 1 mm berbentuk bulat panjang. Pada bulir jantan panjangnya sekitar 1,5-3 cm dan terdapat dua benang sari yang pendek sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 1,5-6 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Buahnya buah buni berbentuk bulat berwarna hijau keabu-abuan. Akarnya tunggang, bulat dan berwarna coklat kekuningan (Fais & Saifullah, 2014).



Gambar 2.8 Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)
(Sumber: Aulung, 2010)

2.3.3 Kandungan Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Daun tanaman sirih ditinjau dari komposisi kimianya, mengandung saponin yang memiliki sifat anti serangga, minyak atsiri 1-4,2%, hidroksikovikol, kovikol,

kavibetol, estragol, eugenol, metal eugenol, karvakrol, terpena, fenil propane, tanin, enzim diastase 0,8-1,8%, enzim katalase, gula, pati dan vitamin A, B dan C. Tanaman sirih mengandung minyak atsiri 1%-4,2%, hidroksikavicol, kavicol 7,2-16,7%, kavibetol 2,7-6,2%, allylpykatekol 0-9,6%, karvakol 2,2-5,6%, eugenol 26,8-42,5%, eugenol methyl ether 4,2-15,8%, p-cymene 1,2-2,5%, cyneole 2,4-4,8% alkohol, caryophyllene 3-9,8%, cadinene 2,4-15,8%, estragol, terpenena, eskuiterpena, fenil propana, tanin, diastese, 0,8-1,8%, gula, dan pati (Dwi Wahyuni, 2013).

Kandungan daun sirih memiliki beberapa fungsi diantaranya senyawa fenol, tanin, alkaloid, pati yang berfungsi sebagai racun perut (Marianti, 2014). *Derivate* fenol (eugenol dan kavicol) yang terkandung dalam daun sirih berkhasiat antiseptik dan khususnya kavikol diketahui mempunyai daya pembunuh bakteri lima kali fenol (Parmata, 2011). Persenyawaan fenol ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan minyak atsiri dari daun sirih juga dapat digunakan sebagai antijamur dan antioksidan (Aini, 2012). Berikut ini adalah tabel 2.1 tentang kandungan biji srikaya

Tabel 2.1 Kandungan yang Terdapat di Daun Sirih (*Piper betle L.*)

Golongan Senyawa	Daun Sirih	
	Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+
Tanin	+	+
Kuionon	-	-
Kumarin	+	+
Minyak Atsiri	+	+

Sumber: Permata Sari, W., 2010

Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan mempunyai sifat-sifat khas dapat membentuk larutan koloidal dalam air

dan membui jika dikocok. Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai racun kontak dan racun perut dimana sangat berpengaruh terhadap kematian larva. Adanya kerusakan taktus digestivus dapat menurunkan tegangan permukaan traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus menjadi korosif (Kusumaningrum, 2007). Tanin juga berfungsi sebagai racun perut yang berpengaruh terhadap kematian larva, dimana cara kerjanya sama dengan saponin yang dapat mengganggu aktifitas fisik, kehilangan banyak cairan sehingga dinding tractus digestivus korosif (Aini, 2012).

2.4 Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Tanaman srikaya adalah salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional dengan nama ilmiah *Annona squamosa* L., salah satu family Annonaceae yang berasal dari Amerika tropis yang sekarang banyak ditanam di Indonesia (Ridhia *et al.* 2013). Nama lokal dari srikaya di negara Malaysia (Nona srikaya, buah nona), Thailand (Lanang), Jerman (Rahm-Annone) dan Italia (pomo canella) (Orwa *et al.*, 2009). Nama daerah srikaya di Indonesia diantaranya Aceh (Delima bintang), Makasar (Sirikaya), Lampung (Seraikaya), Madura (Sarkaya) dan Jawa (Srikaya) (Setiawati *et al.*, 2008).

2.3.1 Sistematika Taksonomi Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari srikaya menurut Plantamor (2012) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Magnoliidae
Order	: Magnoliales
Family	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Species	: <i>Annona squamosa</i> L.

2.3.2 Morfologi Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Srikaya merupakan tanaman pendatang yang berasal dari Amerika Latin yaitu Peru. Tanaman srikaya ini diberi nama *sugar apple* atau *custard apple* oleh pelaut Inggris yang berarti berasa seperti puding yang berbentuk seperti apel. Di Indonesia tanaman ini memiliki nama lokal srikaya, di Malaysia dengan nama nona srikaya, di Filipina terkenal dengan nama atis sedangkan di Arab terkenal dengan sebutan gishta. Nama tanaman srikaya di setiap daerah Indonesia juga berbeda-beda seperti di daerah Aceh (delima bintang), Lampung (seraikaya), Madura (Sarkaya), Jawa Tengah (srikaya) dan Bugis (sirikaya) (Taslimah, 2014).

Tanaman srikaya atau *Annona squamosa* L. adalah tumbuhan yang memiliki batang dengan tinggi 3-7 meter berkayu dengan bentuk bulat (*teres*), permukaan batang memperlihatkan banyak lenti sel dan berwarna coklat muda. Pertumbuhan batang arah tegak lurus dan termasuk tumbuhan menahun atau tumbuhan keras (Ridhia *et al.* 2013). Helai daun srikaya berbentuk lanset atau lonjong lanset dengan panjang 6-17 x 3-6 cm, ujung dan pangkal daun runcing, dasar lengkung, tepi rata, dan berwarna hijau pucat pada kedua permukaannya (Orwa *et al.*, 2009).

Bunga tanaman srikaya bergerombol pendek menyamping dengan panjang sekitar 2,5 cm dengan jumlah 2-4 kuntum berwarna kuning kehijauan yang saling berhadapan pada tangkai kecil panjang berambut dengan panjang 2 cm. Daun bunga bagian luar berwarna hijau, ungu pada bagian bawah. Terdapat banyak serbuk sari bergerombol putih, putik berwarna hijau muda dan panjang putik 1,3-1,9 cm dan lebar 0,6-1,3 cm yang tumbuh menjadi kelompok-kelompok buah (Taslimah, 2014). Buah srikaya bila telah matang memiliki kulit yang mengkilap, sisiknya merenggang dan daging buah berwarna putih (Mulyani *et al.*, 2013). Buah srikaya termasuk buah majemuk berbentuk bola menyerupai jantung, permukaan yang berbenjol-benjol, warna hijau berbintik putih. Daging buah berwarna putih kekuningan dan terasa manis. Biji membujur disetiap karpel, berbentuk *ellipsoid* berwarna coklat tua hingga hitam dengan panjang 1,3-1,6 cm. Satu buah srikaya mengandung 10-50 biji dan dalam satu biji memiliki berat 5-18 gram. Biji srikaya mengandung banyak minyak yang digunakan sebagai insektisida (Taslimah, 2014).



Gambar 2.9 Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.)
(Sumber: Dokumen Pribadi)

2.3.3 Kandungan Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Tanaman srikaya mengandung squamosin, asimisin, aterospermidin, lanuginosin, alkaloid tipe asporfin (anonain) dan bisbenziltetrahydroisokinolin (retikulin) yang berfungsi sebagai insektisida (Taslimah, 2014). Alkaloid merupakan metabolit sekunder tanaman yang mampu menyebabkan kematian serangga melalui mekanisme racun kontak dan racun perut dan mudah mengalami penguraian jika disimpan dalam waktu lama (Satria *et al.*, 2012).

Daun srikaya mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoid (Mulyani *et al.*, 2013). Daun srikaya terdapat kandungan senyawa alkaloid tetrahydroisokuinolin, p-hidroksibenzil-6-7-dihidroksi-1,2,3,4-tetrahydro isokinolin. Bunga mengandung asam kaur-1,6-ene-1,9-oat sebagai komponen aktif (Taslimah, 2014).

Biji srikaya mengandung senyawa kimia annonain yang terdiri dari squamosin dan asimisin (Hermianto *et al.*, 2004). Biji srikaya mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, asetogenin (skuamosin A, skuamosin B, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, N, anonain, anonasin A, anonin I, IV, VI, VIII, IX,

XVI, skuamostatin A, bulatasin, skuamon, neoanonin B, asimisin, sanonasin, anonastatin, neoanonin). Komposisi asam lemak penyusun minyak lemak biji srikaya terdiri dari metal palmitat, metal stearat, metil linoleat (Taslimah, 2014).

2.5 Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa L.*)

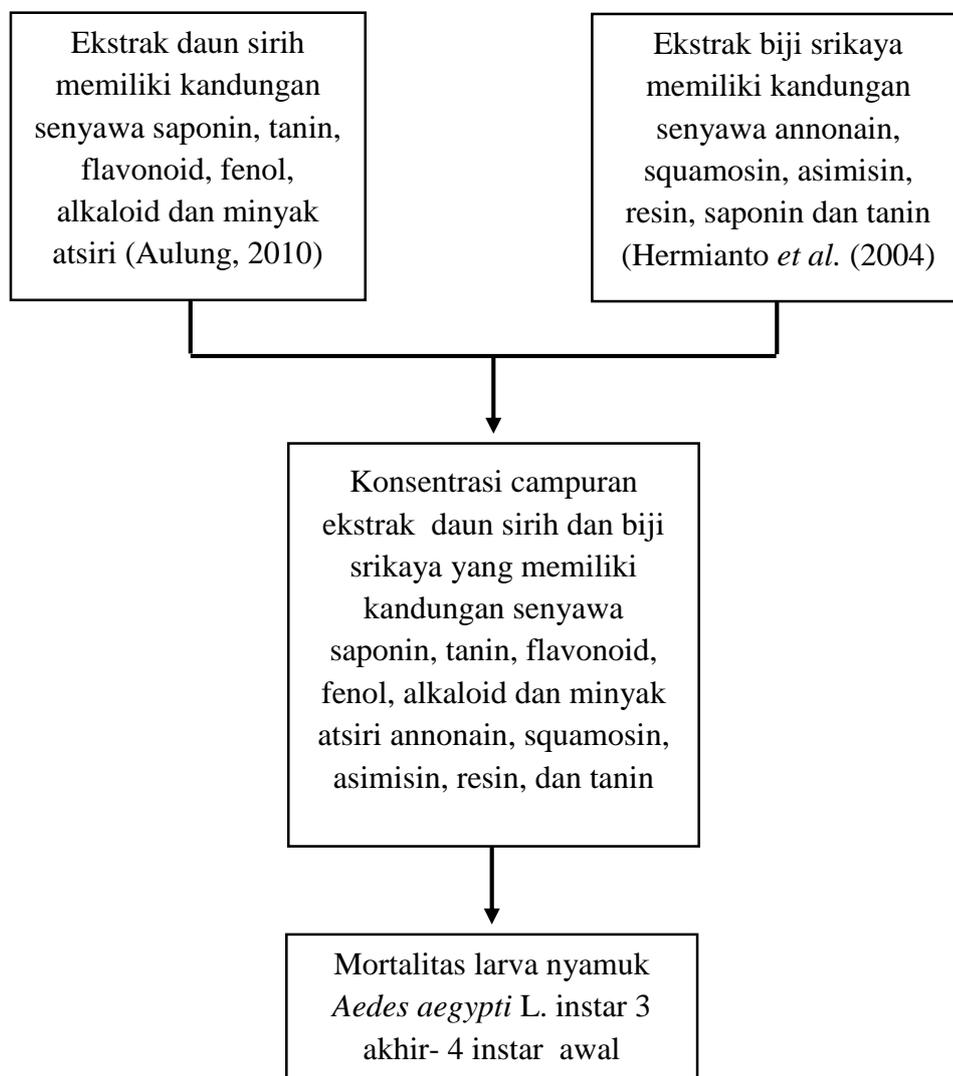
Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa digunakan. Proses ekstraksi bahan alami dapat dilakukan dengan penyaringan. Zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyaring sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyaring tersebut. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Sedangkan maserasi digunakan untuk mencari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyaring. Keuntungannya yaitu cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya yaitu pengerjaannya lama (Nathalia, 2013).

Etanol adalah penyari yang sering digunakan untuk penyarian, sering kali etanol di kombinasikan dengan air dengan komposisi yang beragam tergantung bahan yang akan disari (Marianti, 2014). Etanol merupakan penyari yang berifat polar akan tetapi jika kadarnya tinggi maka sifat senyawanya semi polar. Hal ini yang dikatakan "*like dissolves like*" dimana senyawa yang memiliki sifat yang polar cenderung larut dalam pelarut yang polar, dan sebaliknya. Senyawa yang bersifat nonpolar akan sulit di metabolisme karena sulit untuk dieksresikan oleh tubuh sehingga bersifat toksik (Nathalia, 2013).

Ekstrak daun sirih dan biji srikaya yang sama-sama menggunakan etanol 97% sebagai penyari apabila ingin dilarutkan dalam air pada saat pengujian tidak dapat larut atau homogen dengan begitu saja melainkan perlu adanya suatu peningkat kelarutan yaitu tween 80. Tween 80 adalah ester asam lemak

polioksietilen sorbitan, dengan nama kimia polioksietilen 20 sorbitan monooleat. Tween 80 berwujud cair, berwarna kekuningan dan berminyak, memiliki aroma yang khas, berasa pahit, larut dalam air dan etanol, dan tidak larut dalam minyak mineral. Kegunaan tween 80 antara lain sebagai zat pembasah, emulgator, dan peningkat kelarutan (Akhtar *et al.*, 2011).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.10 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Hal ini dikarenakan perlakuan dan lokasi penelitian bertempat di laboratorium. Berdasarkan hasil penelitian, penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif, dikarenakan hasil penelitian yang diperoleh berupa angka.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Jember untuk ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) serta Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember untuk pemeliharaan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dan uji hayati. Penelitian ini dimulai pada bulan Juli sampai Desember 2015.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), konsentrasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan konsentrasi campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada stadium larva instar III akhir hingga instar IV awal dalam waktu dedah 24 jam.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel yang disamakan dalam penelitian ini, yaitu: larva uji, aquades, waktu pengujian dan lingkungan laboratorium seperti suhu ruangan dan kelembaban.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle* L.) yang dibeli di pasar Tanjung Jember, biji srikaya (*Annona squamosa* L.) yang diperoleh dari Kabupaten Situbondo, etanol 96% , tween 80 dan aquades.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak plastik, oven, blender, timbangan analitik, neraca *ohaus*, tabung erlenmeyer 500 ml, spatula, gelas ukur 100 ml, aluminium foil, *ultrasonic cleaner*, kertas saring, corong *buchner*, *rotary evaporator*, *shaker* dan *beaker glass* 1000 ml.

3.4.2 Pemeliharaan Larva Uji (*Aedes aegypti* L.)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* L. dan aquades. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass* 2000 ml, bak plastik sebagai tempat larva *Aedes aegypti* L., termometer, higrometer, pipet untuk mengambil larva yang akan diperlukan dan gelas plastik untuk pengujian.

3.5 Kriteria dan Jumlah Sampel

3.5.1 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pengambilan sampel penelitian dengan cara homogen dari larva nyamuk *Aedes aegypti* L. antara instar III akhir sampai instar IV awal dengan ukuran 4-6 mm, duri di dada sudah jelas, dan corong pernapasan berwarna hitam yang terseleksi sehat dan lincah.

3.5.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah ± 1140 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Setiap perlakuan untuk uji pendahuluan tanpa pengulangan dan pengujian akhir dilakukan 3 kali pengulangan. Setiap perlakuan pada uji pendahuluan dan uji akhir digunakan 20 larva.

3.6 Definisi Operasional

- a. Toksisitas adalah kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup (Jauhari, 2010).
- b. Campuran adalah zat yang terbentuk dari beberapa jenis zat, yang sifat-sifat zat pembentuknya tetap (masih ada) (Putranto, 2009). Pada penelitian ini, campuran dimaksudkan campuran antara ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.).
- c. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa hingga memenuhi standar baku yang ditetapkan (Nathalia, 2013).
- d. Ekstrak daun sirih merupakan sediaan pekat yang berasal dari daun sirih pilihan dari memiliki kandungan saponin, tanin, eugenol, klavikol, alkaloid dan minyak atsiri sebagai larvasida (Fais & Saifullah, 2014).
- e. Ekstrak biji srikaya merupakan sediaan pekat yang berasal dari biji dari buah srikaya pilihan, berwarna coklat tua hingga hitam, tidak berlubang, padat, tidak berjamur dan memiliki kandungan senyawa dari golongan asetogenin (annonain dan squamosin) (Hermianto *et al.*, 2004).
- f. Mortalitas adalah kematian individu-individu selama kurun waktu tertentu dalam suatu populasi yang dihitung dalam persentase (Odum, 1993: 213). 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.
- 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 dan bergerak dalam siklus hidup serangga, dimana yang menjadi makanannya adalah bahan-bahan organik terlarut air dan mikroorganisme lainnya dan mengalami 4 kali pergantian kulit (*molting*) (Jumar, 2000:76).

3.7 Desain Penelitian

3.7.1 Desain Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan serial konsentrasi yang akan digunakan pada pengujian akhir. Uji pendahuluan dilakukan 3 macam perlakuan, yaitu uji pendahuluan toksisitas daun sirih (*Piper betle* L.), toksisitas biji srikaya srikaya (*Annona squamosa* L.) dan toksisitas campuran daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.). Konsentrasi dalam uji pendahuluan toksisitas daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu 500 ppm dan 1500 ppm, konsentrasi untuk toksisitas biji srikaya srikaya (*Annona squamosa* L.) yaitu 5 ppm dan 100 ppm, dan konsentrasi untuk toksisitas campuran daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) yaitu 2 ppm dan 10 ppm serta aquadest sebagai kontrol. Perbandingan ekstrak campuran daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) digunakan perbandingan 1:1. Pada masing-masing serial konsentrasi dimasukkan 20 ekor larva nyamuk kemudian diamati jumlah larva yang mati.

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)
P1 ₁	500
P1 ₂	1500
K	Kontrol

P1 : Perlakuan dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.)

P1₁ : Konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) 500 ppm

P1₂ : Konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) 1500 ppm

K : Kontrol dengan Air

Tabel 3.2 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)
P2 ₁	5
P2 ₂	100
K	Kontrol

- P2 : Perlakuan dengan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)
 P2₁ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) 5 ppm
 P2₂ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) 100 ppm
 K : Kontrol dengan Air

Tabel 3.3 Rancangan Penelitian Uji Pendahuluan Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam.

Perlakuan	Konsentrasi (ppm) dengan perbandingan 50:50
P3 ₁	2
P3 ₂	10
K	Kontrol

- P3 : Perlakuan perbandingan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)
 P3₁ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dengan ekstrak biji srikaya 2 ppm
 P3₂ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dengan ekstrak biji srikaya 10 ppm
 K : Kontrol dengan air

3.7.2 Desain Uji Akhir

Desain penelitian ini menggunakan rancang acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 kali ulangan yang terdiri dari 3 perlakuan, masing-masing menggunakan 20 ekor larva *Aedest aegypti* L. dalam masa dedah 24 jam.

Tabel 3.4 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam.

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)		
	Konsentrasi 50 : 50		
	1	2	3
P1 ₁	P1 ₁ U1	P1 ₁ U2	P1 ₁ U3
P1 ₂	P1 ₂ U1	P1 ₂ U2	P1 ₂ U3
P1 ₃	P1 ₃ U1	P1 ₃ U2	P1 ₃ U3
P1 ₄	P1 ₄ U1	P1 ₄ U2	P1 ₄ U3
P1 ₅	P1 ₅ U1	P1 ₅ U2	P1 ₅ U3
P1 ₆	P1 ₆ U1	P1 ₆ U2	P1 ₆ U3
K	KU1	KU2	KU3

- P1₁ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 500 ppm
 P1₂ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 700 ppm
 P1₃ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 900 ppm

- P1₄ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 1100 ppm
 P1₅ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 1300 ppm
 P1₆ : Konsentrasi ekstrak daun sirih 1500 ppm
 K : Kontrol dengan Air
 U : Ulangan

Tabel 3.5 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam.

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)		
	Konsentrasi 50 : 50		
	1	2	3
P2 ₁	P2 ₁ U1	P2 ₁ U2	P2 ₁ U3
P2 ₂	P2 ₂ U1	P2 ₂ U2	P2 ₂ U3
P2 ₃	P2 ₃ U1	P2 ₃ U2	P2 ₃ U3
P2 ₄	P2 ₄ U1	P2 ₄ U2	P2 ₄ U3
K	KU1	KU2	KU3

- P2₁ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya 5ppm
 P2₂ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya 10 ppm
 P2₃ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya 50 ppm
 P2₄ : Konsentrasi ekstrak biji srikaya 100 ppm
 K : Kontrol dengan Air
 U : Ulangan

Tabel 3.6 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk (*Aedest aegypti* L.) dalam Masa Dedah 24 Jam.

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)		
	Konsentrasi 50 : 50		
	1	2	3
P3 ₁	P3 ₁ U1	P3 ₁ U2	P3 ₁ U3
P3 ₂	P3 ₂ U1	P3 ₂ U2	P3 ₂ U3
P3 ₃	P3 ₃ U1	P3 ₃ U2	P3 ₃ U3
P3 ₄	P3 ₄ U1	P3 ₄ U2	P3 ₄ U3
P3 ₅	P3 ₅ U1	P3 ₅ U2	P3 ₅ U3
P3 ₆	P3 ₆ U1	P3 ₆ U2	P3 ₆ U3
K	KU1	KU2	KU3

- P3₁ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 2 ppm
 P3₂ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 4 ppm

- P3₃ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 6 ppm
P3₄ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 8 ppm
P3₅ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 10 ppm
P3₆ : Konsentrasi campuran ekstrak daun sirih dan biji srikaya 12 ppm
K : Kontrol dengan Air
U : Ulangan

3.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dalam 3 tahap yaitu, tahap persiapan, tahap uji pendahuluan, dan tahap pengujian akhir.

3.8.1 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan yang dilakukan sebelum melaksanakan penelitian meliputi:

a. Tahap Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat bertujuan untuk mensterilkan semua peralatan agar terbebas dari sisa-sisa bahan kimia dan mikroorganisme lainnya dan proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan sabun cair untuk membersihkan semua peralatan sedangkan alkohol untuk mensterilkan meja tempat untuk penelitian.

b. Persiapan Larva Uji

Pada tahap persiapan serangga uji dilakukan tahap pemeliharaan dan tahap identifikasi larva uji yang dijelaskan sebagai berikut:

1) Tahap Pemeliharaan

Tahap pemeliharaan dapat dijelaskan sebagai berikut, yaitu:

- a) Larva diberi pakan ikan Takari setiap harinya dengan menghaluskan 6 butir pakan dengan mortal. Pemberian pakan dilakukan dengan menaburkan pada bagian pojok-pojok loyang untuk menjaga salinitas air dalam loyang.
- b) Tiap hari dilakukan pengamatan terhadap proses pergantian kulitnya sehingga dapat ditentukan stadium larvanya dengan menghilangkan lapisan yang terbentuk dibagian permukaan air dalam loyang dengan menggunakan pipet dan kertas saring. Kegiatan ini dilakukan setiap hari sebelum pemberian makanan larva.
- c) Larva dipelihara sampai instar III akhir IV awal dan siap digunakan sebagai serangga uji.

d) Larva yang digunakan sebagai serangga uji adalah larva yang terseleksi dan homogen pada stadium larva instar III akhir IV awal dengan kriteria sehat dilihat dengan gerakannya yang lincah.

2) Tahap Identifikasi Larva Uji

Tahap identifikasi larva uji dilakukan melalui pengamatan secara makroskopis yakni dengan mengamati fase istirahat larva dan secara mikroskopis yakni dengan melihat morfologi larva meliputi warna bentuk, ukuran dan duri-duri lateral dengan bantuan alat yaitu mikroskop.

1.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Tahap pembuatan ekstrak daun sirih diawali dengan persiapan pemilihan daun sirih yang diperoleh dari pasar Tanjung Jember dengan cara menyortir yaitu memilih daun yang tidak rusak, tidak ada ulatnya, tidak berbecak kuning. Pembuatan ekstrak biji srikaya diawali dengan persiapan pemilihan biji srikaya yang diperoleh dari Situbondo dengan cara memilih biji yang tidak rusak dan tidak jamur. Pembuatan dari dua bahan tersebut kurang lebih sama. Pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dijelaskan sebagai berikut.

- (1) Mencari daun sirih dan biji srikaya yang masih segar, kemudian di sortir untuk mencari daun dan biji yang tidak rusak. Setelah itu ditimbang dan dicuci bersih dalam bak besar. Setelah dicuci dicacah dan dikeringanginkan.
- (2) Dikeringanginkan selama 7 hari sampai benar-benar kering (tidak ada kandungan air), setelah itu di oven untuk memastikan benar-benar kering selama 2-3 jam. Kemudian diblender menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk.
- (3) Menimbang serbuk sebanyak 150 gram dan memasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 600 ml, diaduk sampai homogen dengan menggunakan spatula dan ditutup dengan aluminium foil.

- (4) Tabung erlenmeyer yang berisi larutan sirih atau srikaya tersebut dimasukkan dalam toples untuk di maserasi selama 3 hari.
- (5) Hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong *Buchner* yang dialasi dengan kertas saring agar endapan sirih tidak ikut kembali.
- (6) Hasil saringan diatas kemudian dimasukkan dalam labu destilasi dan dirangkai sedemikian rupa dengan alat *rotary evaporator* untuk memisahkan etanol dengan ekstrak sirih sehingga dihasilkan ekstrak sirih murni atau ekstrak biji srikaya murni. Mengatur suhu 50°C dan 90 RPM (*Revolutions Per Menit*), dan menunggu selama kurang lebih 3 jam untuk menguapkan ethanol 96% tadi.
- (7) Ekstrak yang telah berhasil dibuat di pindahkan dalam gelas beaker 100 ml dan dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan di dalam lemari es yang siap digunakan sebagai larvasida.

1.8.3 Tahap Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh konsentrasi campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan biji srikaya (*Annona squamosa L.*) yang dapat membunuh larva *Aedes aegypti* sebesar 5% dan 95% dari jumlah larva uji. Uji ini dilakukan tanpa ulangan dan hasilnya tidak dianalisis.

Tahap uji pendahuluan dilakukan 3 uji, uji dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), uji dengan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L.*) dan uji campuran antara ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan biji srikaya (*Annona squamosa L.*) Langkah kerja uji pendahuluan sebagai berikut.

Uji ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)

- a. Mengisi 2 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) 500 ppm, dan 1500 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kasa.
- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati.

Uji ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- a. Mengisi 2 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) 5 ppm dan 100 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kain tile/kasa.
- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati.

Uji ekstrak campuran daun sirih (*Piper betle* L.) dengan biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- a. Mengisi 2 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan 2 ppm dan 10 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kain tile/kasa.
- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati.

1.8.4 Tahap uji akhir

Pada tahap uji akhir ditentukan beberapa macam konsentrasi yang akan digunakan dengan melihat hasil pada uji pendahuluan. Data yang akan di dapat dari uji akhir nantinya akan dilakukan analisis. Uji akhir ini juga menggunakan larva sebanyak 20 ekor dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Langkah kerja uji akhir adalah sebagai berikut:

Uji ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.)

- a. Mengisi 6 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 500 ppm, 700 ppm, 900 ppm, 1100 ppm, 1300 ppm dan 1500 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kasa.
- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC₅₀ menggunakan analisis Probit.

Uji ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- a. Mengisi 4 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan ekstrak biji srikaya dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kasa.
- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC₅₀ menggunakan analisis Probit.

Uji campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- a. Mengisi 6 gelas aqua dengan air sebanyak 100 ml dengan ekstrak daun sirih dan biji srikaya perbandingan 50:50 dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm.
- b. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kasa.

- c. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC₅₀ menggunakan analisis Probit.

3.9 Analisis Data

Terdapat beberapa hal yang dianalisis dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Untuk mengetahui mortalitas larva akibat campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dihitung menggunakan rumus:

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

- b. Apabila mortalitas larva nyamuk kontrol sebesar 5-20% maka dilakukan koreksi persentase dengan menggunakan rumus Abbot :

$$P = \frac{Po - Pc}{100 - Pc} \times 100\%$$

P : Persen mortalitas setelah koreksi

Po : Persen mortalitas larva uji

Pc : Persen mortalitas larva kontrol

Jika persentase mortalitas larva nyamuk kontrol > 20% maka pengujian dianggap gagal dan harus diulang kembali.

- c. Menentukan nilai LC₅₀ 24 jam dari serial konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) digunakan analisis probit dengan *software* yang digunakan adalah *Minitab 14*.

3.10 Alur Penelitian

