



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

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Naradia Widastuti**  
**NIM 110210103068**

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



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

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Naradia Widastuti  
NIM 110210103068**

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

## PERSEMBAHAN

Seiring kalimat syukur yang terucap kepada Allah SWT beserta lantunan sholawat kepada Rasulullah SAW, kupersembahkan skripsi ini kepada:

1. Kedua orangtua tercinta Ayahanda Nuradi, SP dan Ibunda Wiwik Setyastuti, terima kasih atas segenap kasih sayang, jerih payah, kobaran semangat, serta doa restu yang senantiasa mengiringi setiap langkahku meraih cita-cita, Kakakku tersayang Meti Agustin, SE dan keponakan terkasih Ariella Naifa Zahran yang selalu memberikan semangat, motivasi, serta pelajaran berharga untuk terus memperbaiki diri agar terus melangkah menuju keberhasilan.
2. Segenap dosen Pendidikan Biologi dan guru yang telah memberikan ilmu bermanfaat sepanjang hidup saya.
3. Keluarga besar Bimbingan IQ, Bionic 2011
4. Almamater kebanggaan Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

**MOTTO**

“Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan, apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”  
(Terjemahan Surat Al-Insyirah Ayat 5-8)\*

---

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

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naradia Widastuti

NIM : 110210103068

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva *aedes aegypti* L.” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 7 Desember 2015

Yang menyatakan,

Naradia Widastuti

NIM. 110210103068

**SKRIPSI**

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

Oleh

Naradia Widastuti  
NIM 110210103068

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.

**PERSETUJUAN**

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

**SKRIPSI**

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

Oleh

Nama Mahasiswa : Naradia Widastuti  
NIM : 110210103068  
Jurusan : Pendidikan MIPA  
Program Studi : Pendidikan Biologi  
Angkatan Tahun : 2011  
Daerah Asal : Bondowoso  
Tempat, Tanggal Lahir : Bondowoso, 30 Januari 1993

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

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

Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.  
NIP. 19880120 201212 1 001

**PENGESAHAN**

Skripsi Berjudul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.” telah diuji dan disahkan pada:

hari : Rabu  
tanggal : 16 Desember 2015  
tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

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

Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.  
NIP. 19880120 201212 1 001

Anggota I,

Anggota II,

Drs. Wachju Subchan., M.S., Ph.D.  
NIP. 19630813 199302 1 001

Dr. Jekti Prihatin, M.Si.  
NIP. 19651009 199103 2 001

Mengesahkan

Dekan FKIP Universitas Jember,

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

## RINGKASAN

**Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.;** Naradia Widastuti; 110210103068; 2015; 77 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan vektor penyakit demam berdarah. Demam berdarah dengue (DBD). Jumlah kasus DBD menunjukkan kecenderungan meningkat setiap tahun, demikian pula luas wilayah yang terjangkit. Untuk mengendalikan peningkatan tersebut maka diperlukan upaya yaitu dengan memutus siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan menggunakan insektisida botani pada saat nyamuk berada pada tahap larva, salah satunya adalah menggunakan daun sirih (*Piper betle* L.). Kandungan senyawa aktif pada daun sirih bersifat toksik terhadap larva *Aedes aegypti* L. Senyawa aktif tersebut diikat menggunakan pelarut etanol pada saat proses ekstraksi. Penelitian yang sedang berlangsung adalah menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 50%, 70%, 96% dan PA. Pengaplikasian ekstrak pada perairan menyebabkan kondisi perairan menjadi keruh. Pada penelitian ini, peneliti melakukan ekstraksi menggunakan variasi konsentrasi pelarut etanol yang sama tetapi dilakukan penambahan n-heksan untuk dilakukan proses pemisahan klorofil sehingga pada saat pengaplikasian tidak menyebabkan perairan menjadi keruh.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya perbedaan toksisitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berbagai konsentrasi pelarut (50%, 70%, 96% dan PA) dengan penambahan n-heksan yang ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam

dan 48 jam selain itu, untuk mengetahui kondisi air (keruh atau jernih) setelah penambahan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Toksikologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Telur nyamuk diperoleh dari Laboratorium Entomologi ITD (*Institute of Tropical Disease*) UNAIR Surabaya. Data hasil diuji menggunakan SPSS for windows versi 17.0.

Berdasarkan hasil analisis probit menunjukkan bahwa besarnya nilai  $LC_{50-24}$  jam,  $LC_{50-48}$  jam,  $LC_{90-24}$  jam dan  $LC_{90-48}$  jam ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 50% berturut-turut adalah 34426,4 ppm, 7713,14 ppm, 358168 ppm dan 267624 ppm. Besarnya nilai  $LC_{50-24}$  jam,  $LC_{50-48}$  jam,  $LC_{90-24}$  jam dan  $LC_{90-48}$  jam ekstrak daun sirih yang menggunakan etanol 70% berturut-turut adalah 15066,7 ppm, 2712,19 ppm, 82309,6 ppm dan 12794,2 ppm. Besarnya nilai  $LC_{50-24}$  jam,  $LC_{50-48}$  jam,  $LC_{90-24}$  jam dan  $LC_{90-48}$  jam ekstrak daun sirih yang menggunakan pelarut etanol 96% berturut-turut adalah 1131,88 ppm, 19,0463 ppm, 3079,99 ppm dan 1302,05 ppm. Besarnya nilai  $LC_{50-24}$  jam,  $LC_{50-48}$  jam,  $LC_{90-24}$  jam dan  $LC_{90-48}$  jam ekstrak daun sirih yang menggunakan pelarut PA diperoleh berturut-turut adalah 775,776 ppm, 78,0298 ppm, 4052,21 ppm dan 746,812 ppm. Hasil analisis anava untuk ekstrak dengan konsentrasi pelarut etanol 50%, 70%, 96%, dan PA adalah signifikan pada semua perlakuan.

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan, semakin tinggi pula toksisitasnya. Tingkat kekeruhan terendah adalah pada kondisi yang ditambah dengan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 50%. Hendaknya tetap dilakukan pengujian keamanan ekstrak daun sirih terhadap kesehatan dan lingkungan.

## 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.) berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan 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. 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, Mochammad Iqbal S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D., selaku Dosen Penguji Utama, Dr. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan perhatian, nasihat kritik serta saran dalam penyusunan skripsi ini;
6. Dra. Pujiastuti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Kedua orangtua, kakak, beserta keluarga besarku yang telah mendukung dan mendoakanku hingga aku bisa melangkah seperti saat ini;

8. Sahabat terbaikku Faris, sahabat-sahabat seperjuanganku, Lia, Tantri, Ike dan teman-teman Bionic 2011 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih atas perhatian dan dukungan kalian;
9. Keluarga besar Bimbingan IQ, kost 55, Mbak Ika, Mbak Vici, Mami, Fahma, Rully, Rahmi, terima kasih atas semua kisah kasih yang mengiringiku selama 4 tahun ini, teman-temanku Mbak Nat, Iega, Jilly, Mbak Dini, terima kasih atas waktu dan pengalaman yang kalian berikan;
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

Jember, 7 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN .....	vi
HALAMAN PERSETUJUAN .....	vii
HALAMAN PENGESAHAN .....	viii
RINGKASAN .....	ix
PRAKATA .....	xi
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Batasan Masalah .....</b>	<b>7</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>5</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....</b>	<b>8</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	8
2.1.2 Morfologi .....	9
2.1.3 Siklus Hidup .....	15
<b>2.2 Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	16
2.1.2 Morfologi .....	16
2.1.3 Varietas .....	17

2.1.4 Kandungan Kimia Sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	18
<b>2.3 Insektisida</b> .....	20
2.3.1 Jenis Insektisida .....	20
2.3.2 Penggolongan Insektisida .....	21
<b>2.4 Ekstraksi</b> .....	22
<b>2.5 Pemilihan Pelarut</b> .....	23
2.5.1 Etanol .....	23
2.5.2 Heksana.....	25
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	26
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	26
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	26
3.2.1 Tempat Penelitian .....	26
3.2.2 Waktu Penelitian.....	26
<b>3.3 Variabel Penelitian</b> .....	26
3.3.1 Variabel Bebas .....	26
3.3.2 Variabel Terikat .....	27
3.3.3 Variabel Kontrol .....	27
<b>3.4 Alat dan Bahan</b> .....	27
3.4.1 Alat.....	27
3.4.2 Bahan .....	27
<b>3.5 Definisi Operasional</b> .....	28
<b>3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel</b> .....	29
<b>3.7 Prosedur Penelitian</b> .....	29
3.7.1 Penyiapan Larva Uji .....	29
3.7.2 Pembuatan Serial Konsentrasi Pelarut Etanol Ekstrak Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	30
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	31
3.7.4 Pembuatan Serial Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Etanol .....	32
3.7.5 Uji Pendahuluan .....	33
3.7.6 Uji Akhir .....	34
<b>3.8 Parameter Yang Diamati</b> .....	37
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	37
<b>3.10 Alur Penelitian</b> .....	38
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	39

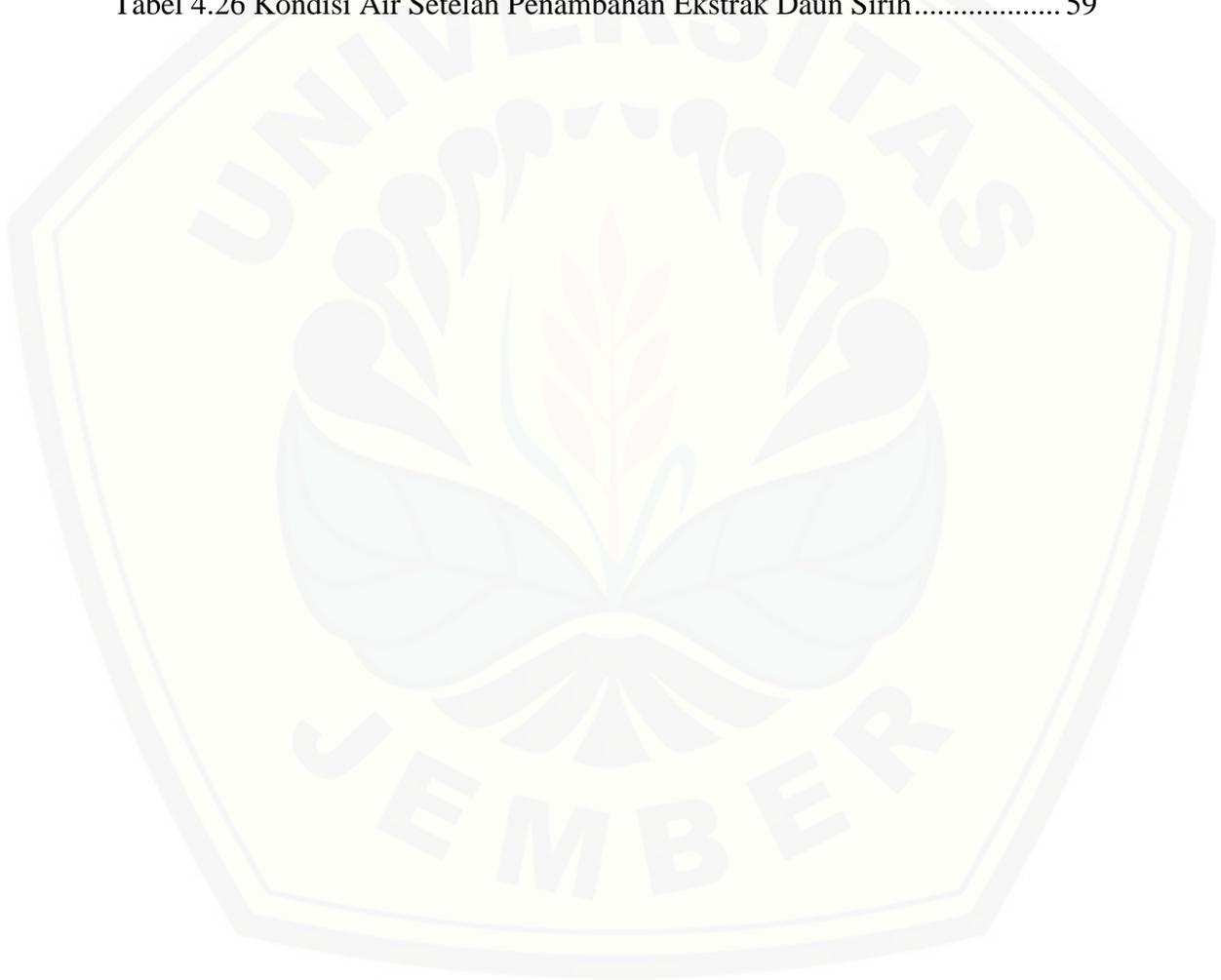
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	39
4.1.1 Identifikasi Telur <i>Aedes aegypti</i> L. ....	39
4.1.2 Identifikasi Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	40
4.1.3 Hasil Uji KLT .....	41
4.1.4 Morfologi Larva Uji Sebelum dan Sesudah Perlakuan .....	41
4.1.5 Hasil Uji Pendahuluan .....	43
4.1.6 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut Etanol 50% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ....	46
4.1.7 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut Etanol 70% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ....	49
4.1.8 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut Etanol 96% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ....	52
4.1.9 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut Etanol PA dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ....	56
4.1.10 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	59
4.1.11 Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstra Daun Sirih.....	59
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	60
4.3.1 Identifikasi Telur <i>Aedes aegypti</i> L. ....	60
4.3.2 Identifikasi Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	61
4.3.3 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	61
4.3.4 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	66
4.3.5 Gejala Keracunan Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Akibat Ekstrak Daun Sirih .....	68
4.3.6 Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih .....	68
<b>BAB 5. KESIMPULAN</b> .....	<b>70</b>
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	70
<b>5.2 Saran</b> .....	71
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>72</b>

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 3.1 Rancangan Uji Akhir .....	35
Tabel 4.1. Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada uji pendahuluan yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 50% dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	43
Tabel 4.2. Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada uji pendahuluan yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 70% dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	44
Tabel 4.3. Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada uji pendahuluan yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 96% dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	44
Tabel 4.4. Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada uji pendahuluan yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol PA dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	45
Tabel 4.5 Toksisitas Ekstrak Daun Sirih dengan Pelarut Etanol 50% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	46
Tabel 4.6 Analisis Probit Nilai LC <sub>50</sub> dan LC <sub>90</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 50% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	47
Tabel 4.7 Analisis Probit Nilai LT <sub>50</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 50% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.....	47
Tabel 4.8 Anava Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 50% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	48
Tabel 4.9 Uji Duncan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 50% Dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	48
Tabel 4.10 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 70% dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah	

24 jam dan 48 jam (n=20 larva) .....	49
Tabel 4.11 Analisis Probit Nilai LC <sub>50</sub> dan LC <sub>90</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 70% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	50
Tabel 4.12 Analisis Probit Nilai LT <sub>50</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 70% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.....	51
Tabel 4.13 Anava Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 70% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	51
Tabel 4.14 Uji Duncan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 70% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	52
Tabel 4.15 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 96% dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam (n=20 larva) .....	52
Tabel 4.16 Analisis Probit Nilai LC <sub>50</sub> dan LC <sub>90</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 96% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	54
Tabel 4.17 Analisis Probit Nilai LT <sub>50</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 96% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	54
Tabel 4.18 Anava Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 96% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	55
Tabel 4.19 Uji Duncan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol 96% dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	55
Tabel 4.20 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. yang diperlakukan menggunakan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol PA dengan penambahan n-heksan pada waktu dedah 24 jam dan 48 jam (n=20 larva) .....	56
Tabel 4.21 Analisis Probit Nilai LC <sub>50</sub> dan LC <sub>90</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol PA dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	57
Tabel 4.22 Analisis Probit Nilai LT <sub>50</sub> Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol PA dengan Penambahan N-Heksan terhadap	

Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	57
Tabel 4.23 Anava Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol PA dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	58
Tabel 4.24 Uji Duncan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Pelarut Etanol PA dengan Penambahan N-Heksan terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam .....	58
Tabel 4.25 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Berbagai Konsentrasi Pelarut dengan Penambahan N-Heksan.....	59
Tabel 4.26 Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih.....	59



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Telur <i>Aedes aegypti</i> L. ....	10
Gambar 2.2 Larva <i>Aedes aegypti</i> L. ....	12
Gambar 2.3 Pupa <i>Aedes aegypti</i> L. ....	13
Gambar 2.4 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ....	14
Gambar 2.5 Tanaman Sirih ( <i>Piper betle</i> L.) ....	16
Gambar 2.6 Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	17
Gambar 4.1 Telur nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. secara makroskopis dan mikroskopis .....	39
Gambar 4.2 Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. instar IV .....	40
Gambar 4.3 Indikator Keberadaan Senyawa Flavonoid .....	41
Gambar 4.4 Morfologi Larva Sebelum dan Setelah Perlakuan .....	42
Gambar 4.5 Morfologi Larva Mati Secara Makroskopis dan Mikroskopis .....	42
Gambar 4.6 Histogram Mortalitas Larva Perlakuan Ekstrak Pelarut Etanol 50% .....	46
Gambar 4.7 Histogram Mortalitas Larva Perlakuan Ekstrak Pelarut Etanol 70% .....	50
Gambar 4.8 Histogram Mortalitas Larva Perlakuan Ekstrak Pelarut Etanol 96% .....	53
Gambar 4.9 Histogram Mortalitas Larva Perlakuan Ekstrak Pelarut Etanol PA.....	56

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Hal
Lampiran A. Matriks Penelitian .....	78
Lampiran B. Dokumentasi Penelitian .....	80
Lampiran C. Hasil Uji Pendahuluan .....	82
Lampiran D. Mortalitas Larva Uji Akhir .....	83
Lampiran E. Analisis Probit $LC_{50}$ .....	87
Lampiran F. Analisis Probit $LC_{90}$ .....	99
Lampiran G. Analisis Probit $LT_{50}$ .....	111
Lampiran H. Analisis Varian (ANOVA) .....	140
Lampiran I. Uji Duncan .....	148
Lampiran J. Surat-surat .....	152

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan vektor penyakit demam berdarah. Demam berdarah dengue (DBD) atau *dengue haemorrhagie* (DHF) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue family Flaviviridae dengan genusnya adalah Flavivirus RNA Togavirus. Demam berdarah merupakan salah satu penyakit yang telah menimbulkan kematian yang cukup tinggi setiap tahun. Seluruh wilayah Indonesia berpotensi terjangkit penyakit ini. Mulyanto (2008) menyatakan bahwa nyamuk *Aedes aegypti* L. mempunyai kebiasaan menggigit berulang-ulang (*multiple bitters*), yaitu dapat menggigit beberapa orang secara bergantian dalam waktu singkat, sehingga sangat berpotensi menularkan virus ke beberapa orang dalam waktu singkat. Namun demikian, nyamuk betina yang belum pernah menggigit orang sakit DBD tidak berbahaya. Pemberantasan vektor penyebab penyakit DBD tersebut mulai banyak diutamakan, seperti pegasapan (*fogging*), pencampuran bahan-bahan kimia lainnya pada bak penampungan air, serta penggunaan anti-anti nyamuk berbahan kimia pada kulit sebagai perlindungan terhadap ancaman gigitan nyamuk. Upaya tersebut cukup efektif berkaitan dengan tindakan pencegahan penyakit DBD, namun upaya tersebut berdampak pada lingkungan dikarenakan penggunaan bahan kimia secara terus menerus.

Pemberantasan kimiawi sebagai pembunuh nyamuk yang efektif. Seiring berjalannya waktu, semakin banyak dampak negatif yang diakibatkan oleh penggunaan insektisida kimiawi tersebut. Hal ini dibuktikan oleh Nugroho (2010) yang menyatakan bahwa penggunaan larvasida sintesis (kimiawi) sangat merugikan masyarakat, seperti pencemaran lingkungan dan menyebabkan resistensi, sebagai contoh seperti yang dilaporkan oleh Lidia (2008) dari hasil penelitian uji biokemis

terhadap nyamuk *Aedes albopictus* di Palu, telah terjadi toleran (resisten sedang) sebesar 99,58%, dan resisten sebesar 0,92% terhadap insektisida organophosphat (malation dan temefos). Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan insektisida alternatif. Bahan insektisida yang baik untuk dikembangkan menurut Krisdiyanta, *et al.* (2004) adalah insektisida hayati yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau disebut dengan insektisida botani. Insektisida botani digunakan untuk menghindari resiko resistensi bagi nyamuk *Aedes aegypti* L. ketika insektisida kimiawi digunakan terus menerus. Namun, penggunaan insektisida botani pun tidak menutup kemungkinan dapat menyebabkan nyamuk *Aedes aegypti* L. resisten jika digunakan terus menerus. Oleh karena itu, penggunaan insektisida botani harus diaplikasikan dengan cara memutus siklus hidup *Aedes aegypti* L. yaitu membunuh larva *Aedes aegypti* L. Insektisida botani ternyata mempunyai potensi sebagai pengendali vektor karena dapat membunuh larva. Jenis insektisida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan ternak peliharaan karena residunya mudah hilang (Kardinan, 2003).

Penggunaan insektisida botani diharapkan dapat menjadi insektisida alternatif yang ramah lingkungan bagi masyarakat dan dapat menanggulangi laju pertumbuhan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor beberapa penyakit seperti demam berdarah dengue (DBD), *filariasis*, dan *yellow fever* (Kusumaningrum, 2007). Penggunaan insektisida botani sebagai alternatif cara pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* L. kian banyak menjadi ulasan. Ada banyak jenis dan teknik pengolahan tumbuhan di Indonesia yang sangat mungkin digunakan sebagai insektisida botani. Teknik yang sekarang ini banyak berkembang adalah dengan proses ekstraksi. Ekstraksi adalah suatu metode umum yang digunakan untuk mengambil produk dari bahan alami seperti jaringan tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang digunakan untuk menarik komponen non polar dengan menambahkan pelarut polar, misalnya etanol dengan konsentrasi tertentu. Ekstraksi memanfaatkan pembagian suatu zat terlarut tersebut dari suatu pelarut ke pelarut lain (Ostoby, 2001). Teknik ekstraksi tersebut

diperlukan agar dapat menghasilkan insektisida dengan cara memanfaatkan sumber daya yang tersedia di alam misalnya tumbuhan.

Famili tumbuhan yang dianggap merupakan sumber potensial insektisida botani adalah Meliaceae, Annonaceae, Astraceae, Piperaceae dan Rutaceae (Kardinan, 2003). Daun sirih (*Piper betle* L.) termasuk dalam famili Piperaceae (sirih-sirihan) yang mengandung minyak atsiri dan senyawa alkaloid. Senyawa-senyawa seperti sianida, saponin, tanin, flavonoid, steroid, alkaloid dan minyak atsiri diduga dapat berfungsi sebagai insektisida. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan (Dinata, 2008). Respon jentik terhadap senyawa ini adalah menurunnya laju pertumbuhan dan gangguan nutrisi (Dinata, 2008). Cara kerja senyawa kimia tersebut di atas adalah sebagai *stomach poisoning* atau racun perut yang dapat mengakibatkan gangguan sistem pencernaan larva *Aedes aegypti.*, sehingga larva gagal tumbuh dan akhirnya mati (Suyanto, 2009).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk membuktikan penggunaan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai insektisida. Salah satunya oleh Widajat, *et al.* (2008) tentang dosis insektisida ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Culex* sp. dengan potensi 50% menunjukkan bahwa dari ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki efek insektisida terhadap nyamuk *Culex* sp. dengan potensi 50% dicapai pada dosis  $5 \cdot 10^4$  ppm dengan waktu 15 menit. Penggunaan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada kenyataan di lapangan menyebabkan kondisi air menjadi keruh. Hal ini menjadi salah satu kelemahan ekstraksi.

Dalam rangka menanggulangi masalah tersebut, maka perlu diusahakan suatu cara salah satunya memproses ekstrak agar membuat kondisi perairan tetap bening yaitu dengan menambahkan senyawa n-heksan pada proses ekstraksi. Senyawa n-heksan merupakan senyawa non polar yang dapat digunakan sebagai solven atau pelarut untuk mengekstraksi karotenoid dari CPO (*Crude Palm Oil*) (Firdiana dalam Maulida, 2010). Pada penelitian sebelumnya (Lilipaly, 2014) menggunakan jenis pelarut etanol 70%, dan pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2013)

menggunakan pelarut etanol 96% sehingga belum ada penelitian yang menggunakan beberapa konsentrasi pelarut etanol untuk mengetahui perbedaan toksisitasnya terhadap larva *Aedes aegypti* L. Penelitian yang sedang berlangsung adalah penelitian tentang ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan menggunakan beberapa konsentrasi pelarut etanol (50%, 70%, 96%, dan Pro Analisis atau PA) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L. Dalam waktu yang sama, penulis ingin mengembangkan penelitian tersebut dengan menambahkan senyawa n-heksan pada proses ekstraksi dengan tujuan menanggulangi permasalahan di atas. Berdasarkan latar belakang di atas penulis melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Berbagai Konsentrasi Pelarut Dengan Penambahan n-heksan Terhadap Larva *Aedes aegypti* L.”

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Berapakah toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 50% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L.?
- b. Berapakah toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 70% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L.?
- c. Berapakah toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 96% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L.?
- d. Berapakah toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol PA dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L.?
- e. Bagaimanakah perbedaan toksistas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut (etanol 50%, 70%, 96% dan PA) dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L.?
- f. Bagaimanakah kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.)?

### 1.3 Batasan Masalah

Untuk mengurangi kerancuan dan memberikan batasan terhadap pembahasan, maka batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam penelitian ini dihitung berdasarkan besarnya  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  yang dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam dan 48 jam;
- b. toksikon yang diharapkan memiliki efek toksik adalah ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), dengan kandungan saponin, tanin, dan flavonoid;
- c. kondisi air yang diteliti adalah meliputi warna (keruh atau jernih) dan aroma (menyengat atau tidak menyengat);
- d. tanaman sirih (*Piper betle* L.) yang dipakai dalam penelitian ini diperoleh dari Kecamatan Patrang, Kabupaten Jember;
- e. daun sirih (*Piper betle* L.) yang dipakai dalam penelitian ini adalah daun dewasa, yakni daun sirih hijau yang tidak terlalu tua maupun terlalu muda yang merupakan daun ke 3 sampai ke 13 dari pucuk daun dengan ukuran daun relatif sama;
- f. pelarut yang digunakan adalah etanol 50%, 70%, 96% dan PA;
- g. pelarut dengan berbagai macam konsentrasi yang digunakan dalam proses ekstraksi diharapkan menunjukkan adanya perbedaan terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L.;
- h. mortalitas larva ditunjukkan dengan tidak adanya gerakan saat disentuh dengan pipet dan tenggelam di dasar wadah;
- i. larva nyamuk *Aedes aegypti* 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 sampai IV awal larva nyamuk *Aedes aegypti* yang digunakan dalam

penelitian atas pertimbangan pada tahap instar tersebut alat-alat tubuh nyamuk telah lengkap (duri-durinya) dan larva relatif stabil terhadap pengaruh luar.

## 1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yakni sebagai berikut :

- a. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 50% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium.
- b. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 70% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium.
- c. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol konsentrasi 96% dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium.
- d. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada pelarut etanol PA dengan penambahan n-heksan terhadap larva *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium.
- e. Untuk menganalisis besarnya toksisitas  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam kondisi laboratorium dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- f. Untuk mengetahui kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam kondisi laboratorium dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini antara lain:

- a. Bagi peneliti

Untuk melatih keterampilan dalam melakukan penelitian dan menambah pengetahuan khususnya dalam bidang ilmu Biologi, mengenai perbedaan toksisitas

ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Selain itu dapat mengaplikasikan ilmu yang telah didapat selama kuliah dan menjadi pengalaman berharga serta dapat memperluas wawasan ilmu pengetahuan dan ikut serta mengembangkan dan meningkatkan mutu ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan upaya pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor beberapa penyakit yang ada di Indonesia, terutama penyakit demam berdarah.

b. Bagi Ilmu Pengetahuan

Dapat digunakan sebagai acuan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan tumbuhan sirih (*Piper betle* L.) sebagai insektisida botani yang ramah lingkungan dan upaya pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor penyakit demam berdarah.

c. Bagi akademik

Dapat memberikan informasi lebih mendalam terhadap penelitian mengenai tumbuhan sirih (*Piper betle* L.) sebagai realisasi untuk meningkatkan penelitian ilmiah di kampus mengenai tanaman yang mempunyai manfaat sebagai insektisida botani.

d. Bagi masyarakat luas

Dapat memberikan informasi mengenai upaya pemberantasan vektor penyakit demam berdarah yakni nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan menggunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.).

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. pada dasarnya terdapat di air bersih yang tergenang. *Aedes aegypti* L. merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus dengue penyebab penyakit demam berdarah (Adifian, *et al*, 2013).

Nyamuk *Aedes aegypti* L. dikenal dengan sebutan *black-white mosquito* atau *tiger mosquito* karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar warna hitam (Soegijanto, 2004). Nyamuk *Aedes* termasuk ke dalam famili Culicidae dengan subfamili Culicinae. Nyamuk betina *Aedes aegypti* memiliki bentuk abdomen yang lancip pada ujungnya. Ukuran tubuh nyamuk betina lebih besar dibandingkan nyamuk jantan (Gillot, 2005).

#### 2.1.1 Klasifikasi

ITIS (2011), mengklasifikasi nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah sebagai berikut :

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.

### 2.1.2 Morfologi

Nyamuk *Aedes aegypti* L. disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis 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 (Soegijanto, 2004). Panjang badan nyamuk ini sekitar 3-4 mm dengan bintik hitam dan putih pada badan dan kepalanya, terdapat ring putih pada bagian kakinya. Nyamuk ini berkembang biak di air yang jernih dan hanya mampu terbang sejauh 100-200 meter. Kebanyakan nyamuk *Aedes aegypti* L. hidup di dalam rumah, di kloset, dan di tempat-tempat yang gelap. Di luar rumah, nyamuk tersebut hidup di tempat yang dingin dan terlindung matahari (Suharmiati dalam Lilipaly, 2014). Berikut adalah morfologi dari masing-masing tahap perkembangan nyamuk *Aedes aegypti*:

#### a) Telur

Telur *Aedes aegypti* Berbentuk elips atau oval memanjang, warna hitam, ukuran 0,5-0,8 mm, permukaan poligonal, tidak memiliki alat pelampung, dan diletakkan satu persatu pada benda yang terapung atau pada dinding bagian dalam Tempat Penampungan Air (TPA). Dilaporkan bahwa dari telur yang dilepas, sebanyak 85% melekat di dinding TPA, sedangkan 15% lainnya jatuh ke permukaan air (Soegijanto, 2004). Telur dapat bertahan hidup dalam waktu yang cukup lama dalam bentuk dorman (Sembel, 2009). Telur dapat bertahan berbulan-bulan pada suhu  $-2^{\circ}\text{C}$  sampai  $42^{\circ}\text{C}$  dalam keadaan kering. Telur ini akan mentetas jika kelembaban terlalu rendah dalam waktu 4-5 hari (Soedarmo dalam Mariaty, 2010)

Nyamuk betina dapat meletakkan rata-rata sebanyak 100 butir telur setiap bertelur. Kira-kira setelah 2 hari telur akan menetas menjadi larva. Telur dapat bertahan sampai berbulan-bulan pada suhu sekitar sampai  $42^{\circ}\text{C}$ , tetapi apabila kelembaban udara terlalu rendah, maka telur akan menetas dalam waktu 4 hari. Telur yang jumlahnya ratusan bahkan ribuan biasanya akan melekat di permukaan air yang

vertikal (sisi tegak) dinding. Air yang disukai adalah air tawar yang jernih dan tenang (Nurdian, 2003)



Gambar 2.1 Telur *Aedes aegypti*  
(Sumber: Kartika, 2014)

b) Larva

Larva *Aedes aegypti* tubuhnya memanjang tanpa kaki dengan rambut sederhana yang tersusun secara bilateral simetris. Larva ini dalam pertumbuhan dan perkembangannya mengalami 4 kali pergantian kulit (*ecdysis*), dan larva yang terbentuk berturut-turut disebut larva instar I, II, III, dan IV (Soegijanto, 2004).

Larva nyamuk *Aedes aegypti* berukuran  $8 \times 4 \text{ mm}^2$ , mempunyai pelana yang terbuka, bulu sifon satu pasang dan gigi sisir berduri lateral. Larva instar I sangat kecil, berwarna transparan, panjang tubuhnya 1-2 mm, duri pada dada belum jelas, corong pernapasan belum menghitam. Larva instar II bertambah besar ukurannya 2-4 mm, duri-duri di dada belum jelas, corong pernapasan mulai menghitam. Larva instar III lebih panjang, ukurannya 4-5 mm, duri-duri di dada sudah jelas, corong pernapasan sudah berwarna hitam. 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. Larva instar IV mempunyai ciri sifon pendek, sangat

gelap dan kontras dengan warna tubuhnya. Gerakan larva instar IV lebih lincah dan sensitif terhadap rangsangan cahaya (Borrer dalam Mariaty, 2010)

Tubuh larva nyamuk terbagi menjadi tiga bagian yaitu kepala (*cephal*), dada (*thorax*), dan perut (*abdomen*) (Nurdian, 2003). *Cephal* terletak di anterior, 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. *Thorax* berukuran lebih besar daripada kepala dan perut. *Abdomen* berukuran lebih panjang, 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 *siphon* atau tabung udara yang berfungsi sebagai saluran pernapasan. Segmen IX terdapat insang ekor (*anal gills*) yang berbentuk lonjong. Larva *Aedes aegypti* pada saat istirahat kepala, dada, dan perut berada tegak lurus di permukaan air (Grantham dalam Kurniawati, 2004).

Stadium larva merupakan stadium yang sangat aktif makan dan bergerak. Larva bergerak sangat lincah yaitu sangat aktif membuat gerakan ke atas dan ke bawah jika air terguncang. Namun, jika sedang istirahat, larva diam dan tubuhnya akan membentuk sudut terhadap permukaan air dan siphonnya ditonjolkan ke arah permukaan air (Kardinan, 2003). Makanan larva selama perkembangannya di dalam air ialah mikroorganisme, mikroalga, atau plankton baik yang masih hidup atau yang sudah mati (Apperson, 1996).



Gambar 2.2 Larva *Aedes Aegypti*

(Sumber: Kartika, 2014)

c) Pupa

Tubuh pupa terbagi menjadi dua bagian yaitu, bagian kepala-dada (*chephalotorax*) dan perut. *Chephalotorax* merupakan gabungan bagian kepala dan dada yang terlindungi oleh suatu lapisan pembungkus. Pupa nyamuk *Aedes aegypti* tubuhnya bengkok, dengan *chephalotorax* lebih besar bila dibandingkan dengan perutnya, sehingga memberi kesan seperti tanda baca “koma” (Wahyuni, 1998).

Pada bagian punggung (*dorsal*) dada terdapat alat pernapasan seperti terompet. Pada ruas perut ke VIII terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Alat pengayuh tersebut berjumbai panjang dan bulu di nomor tubuh pada ruas perut ke VIII tidak bercabang (Soegijanto, 2004).

Pupa merupakan bentuk transisi yang dicirikan dengan terjadinya perubahan dan penyusunan kembali alat tubuh bagian dalam dan bagian luar. Ditinjau dari perkembangan sayapnya, sayap berkembang dari dalam sehingga dikenal sebagai *internal wings bud* (tunas sayap). Pupa mempunyai tabung pernapasan yang berbentuk segitiga. Pada saat menjadi kepompong tidak memerlukan makanan, melainkan hanya oksigen

untuk hidup. Menurut Nurdian (2003), 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.



Gambar 2.3 Pupa *aedes Aegypti*  
(Sumber: Rini, 2012)

d) Dewasa (imago)

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa memiliki ukuran sedang dengan tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai tiga bagian tubuh, yaitu kepala (*cephal*), dada (*thoraks*), dan perut (*abdomen*). Badanya lonjong dengan badan sekitar 5 mm. Warna tubuhnya hitam, mempunyai bercak-bercak dan garis-garis putih sehingga dijuluki sebagai *tiger mosquito* (Nurdian, 2003).

Cephal 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 kepala dan dada, probosis bersisik gelap. Pada betina probosisnya berukuran lebih 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 mencolok (Grantham dalam Kurniawati, 2004).

Thoraks terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggung (*mesentum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain. Gambaran punggung nyamuk *Aedes aegypti* berupa sepasang garis lengkung putih pada tepinya dan sepasang garis sub median ditengahnya (Gordon dan Lovapire dalam Wahyuni, 1998). Dada nyamuk ini tersusun dari tiga ruas, yaitu prothorax, mesothorax, dan metathorax. Setiap ruas dada ada sepasang kaki yang terdiri dari femur (paha), tibia (betis), dan tarsus. Pada ruas-ruas kaki ada gelang-gelang putih, tetapi pada bagian tibia kaki belakang tidak ada gelang putih. Pada bagian dada terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam (Soegijanto, 2004).

Abdomen tersusun atas 8 segmen; segmen VIII pada nyamuk jantan lebar dan berbentuk kerucut sedang pada nyamuk betina segmen VIII agak meruncing dengan sersi menonjol (Jobins dalam Kurniawati, 2003). Waktu istirahat posisi nyamuk *Aedes aegypti* ini tubuhnya sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapinya. Dalam meneruskan keturunannya, nyamuk *Aedes aegypti* betina hanya kawin satu kali seumur hidupnya. Biasanya perkawinan terjadi 24-28 hari dari saat nyamuk dewasa (Hiswani dalam Mariaty, 2010).



Gambar 2.4 Nyamuk Dewasa *Aedes aegypti* L.  
(Sumber: Kartika, 2014)

### 2.1.3 Siklus Hidup

*Aedes aegypti* L. merupakan serangga holometabola, yakni serangga yang melakukan metamorfosis sempurna dari telur, larva, pupa dan fase dewasa (imago). Imago (nyamuk dewasa) dapat hidup 2 minggu sampai satu bulan tergantung pada kondisi lingkungannya. Untuk menyelesaikan siklus hidup *Aedes aegypti* L. diperlukan waktu 1,5 minggu sampai 3 minggu (California Departement of Public Health, 2014).

Untuk menyelesaikan satu siklus hidupnya diperlukan waktu antara 9 – 12 hari atau rata-rata 10 hari dari telur sampai imago menghasilkan telur kembali (Borrer, 1992).

## 2.2 Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman yang dikenal luas oleh masyarakat Indonesia, daerah Asia Selatan, dan Asia Tenggara. Sirih merupakan tumbuhan obat yang sangat besar manfaatnya. Dalam farmakologi Cina, sirih dikenal sebagai tanaman yang memiliki sifat hangat dan pedas.

Sirih merupakan tanaman merambat menyerupai tanaman merica yang mempunyai rasa seperti rempah-rempah. 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, *et al*, 2012). Tanaman ini mudah didapat, dan sering ditanam dipekarangan rumah sebagai tanaman hias. Sirih diduga mengandung zat yang bersifat larvisida terhadap larva *Aedes aegypti* (Aulung, *et al*, 2010).

### 2.2.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle</i> L.

(Plantamor, 2008)

### 2.2.2 Morfologi

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, *et al*, 2012).



Gambar 2.5 Tanaman Sirih (*Piper betle*)  
(Sumber : [www.asianflora.com](http://www.asianflora.com))

Helaian daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, ujung runcing, pangkal berbentuk jantung atau agak bulat, sedikit berlekuk, tepi daun rata agak menggulung, panjang 5-18 cm, lebar 3-12 cm; warna daun hijau kecokelatan hingga cokelat, permukaan bawah kasar, kusam, berwarna lebih muda dari permukaan atas. Tulang daun permukaan atas agak tenggelam, permukaan bawah menonjol, tangkai daun bulat, panjang 1,5-3 cm; bau khas; rasa pedas (Farmakope Herba, 2007: 104)

Menurut Kartasapoetra (1996), helai-helai daun sirih berbentuk bulat telur, ada pula yang bulat telur memanjang. Ujung daun meruncing, sedang pangkal daun berbentuk yang kadang-kadang tidak setangkup. Ukuran daun, panjang sekira 5 cm sampai 18 cm, lebar sekitar 2 cm sampai 20 cm. Warna daun hijau tua, hijau muda agak kekuning-kuningan.



Gambar 2.6 Daun sirih (*Piper betle* L.)  
Sumber: [herbscenter.wordpress.com](http://herbscenter.wordpress.com)

### 2.2.3 Varietas

Berdasarkan bentuk daun, rasa, dan aromanya, sirih dibedakan menjadi beberapa varietas 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).

#### 2.2.4 Kandungan Kimia Sirih (*Piper betle* L.)

Bagian tanaman sirih (*Piper betle* L.) yang biasanya digunakan adalah daunnya. Daun sirih dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methyl euganol*, *Caryophyllen* (siskuitерpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen*. Karvakol bersifat sebagai desinfektan dan antijamur sehingga bisa digunakan sebagai antiseptik, euganol dan *methyl-euganol* dapat digunakan untuk mengurangi sakit gigi. Selain itu didalam daun sirih juga terdapat flavanoid, saponin, dan tanin.

Flavonoid merupakan molekul yang larut dalam air yang mengandung 15 atom karbon. Flavonoid termasuk ke dalam famili polifenol. Kerangka dasar flavonoid dapat dilihat sebagai cincin benzena yang bergabung bersama-sama dengan tiga rantai karbon yang pendek (Tanaka, *et al.*, 2008). Flavonoid bekerja sebagai racun perut (*stomach poison*) terhadap larva *Aedes aegypti* sehingga menyebabkan kematian (Wahyuni, 2015).

Flavonoid bertindak sebagai antioksidan pada tanaman, antimikroba, fotoreseptor, penolak makan, dan untuk penyaringan cahaya. Banyak studi telah menyatakan bahwa flavonoid menunjukkan aktivitas biologis, termasuk antialergenik, antivirus, anti-inflamasi, dan efek vasodilatasi (Jordheim, 2007). Flavonoid

merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksik (Dinata, 2008).

Kandungan senyawa aktif daun sirih (*Piper betle* L.) yang lainnya adalah saponin. Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Robinson, 1995). Fungsi saponin dalam tubuh tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Saponin merupakan toksin yang bersifat polar dan ketika masuk ke tubuh larva akan menyebabkan kerusakan pada sel darah merah (*hemolysis*) (Wahyuni, 2015). Saponin merupakan racun kontak, saraf dan racun perut bagi insekta dan moluska.

Menurut Mursito (2002) saponin dan tannin bersifat sebagai antiseptik 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. Daun sirih antara lain mengandung kavikol dan kavibetol yang merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa.

Daun tanaman sirih ditinjau dari komposisi kimianya mengandung saponin yang memiliki sifat anti serangga, minyak atsiri 1-4,2%, hidroksikovikol, kovikol, kavibetol, estragol, eugenol, karvakol, terpena, fenil propane, tanin, enzim dastase 0,8-1,8%, enzim katalase, gula, pati dan vitamin A, B dan C. Menurut Sastroamidjojo (dalam Hermawan, 2006) daun sirih mengandung minyak atsiri 4,2%, yang sebagian besar terdiri dari *betephenol betephenol* yang merupakan isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methil euganol*, *Caryophyllen* (siskuitерpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen* sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri. Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan mempunyai sifat-sifat khas dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membui

bila dikocok. Glikosida saponin bisa berupa saponin steroid maupun saponin triterpenoid.

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun sirih (*Piper betle*) mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, antarkuinon, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Dari banyak hasil penelitian bidang farmakologi, terpenoid teridentifikasi sebagai agen antiprotozoal dan antimalaria (Abdulelah, *et al*, 2010).

### 2.3 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).

#### 2.3.1 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.

### 2.3.2 Penggolongan Insektisida

Penggolongan insektisida berdasarkan cara masuknya ke dalam serangga dapat dijelaskan sebagai berikut.

#### a. Racun Kontak (*contact 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. 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, lekat isap, kerat isap, dan bentuk mengisap (Gandahusada dalam Ismatullah, 2014).

c. Racun Pernapasan (*fumigants*)

Insektisida masuk melalui sistem pernapasan (*spirakel*) dan juga melalui permukaan badan serangga. Insektisida ini dapat digunakan untuk mengendalikan semua jenis serangga tanpa harus memperhatikan bentuk mulutnya.

## 2.4 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 ).

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 kepolarannya 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).

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 (kadangkadang satu bagian) ekstrak cair.

## 2.5 Pemilihan Pelarut

Ada dua syarat agar pelarut dapat digunakan di dalam proses ekstraksi, yaitu pelarut tersebut harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi dan pelarut tersebut harus dapat cepat terpisah setelah pengocokan. Dalam pemilihan pelarut yang harus diperhatikan adalah toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi serta reaktivitas (Williams dalam Amiarsi, *et al*, 2006).

### 2.5.1 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). Pelarut etanol merupakan pelarut yang bersifat selektif, tidak beracun, dan bersifat universal yang cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder (Dwijendra, *et al*, 2014).

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). Senyawa minyak atsiri, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid dan antikuinon dapat terekstraksi pada etanol ataupun fraksi-fraksinya. Semakin besar konsentrasi ekstrak atau fraksi yang diberikan akan menghasilkan daerah hambat yang semakin besar, hal ini disebabkan semakin banyak zat aktif yang terkandung dalam ekstrak maupun fraksi tersebut (Reveny, 2011).

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 dengankadar 96,0-96,5°GL yang digunakan terutama

untuk industri farmasi dankosmetik serta untuk minuman beralkohol sedangkan etanol absolut adalah etanol dengan kadar yang sangat tinggi yaitu 99,7-99,8°GL.

### 2.5.2 Heksana

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$  (isomer utama n-heksana memiliki rumus  $CH_3(CH_2)_4CH_3$ . Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. N-Heksana merupakan jenis pelarut non polar.

Heksana dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak nilam yang dapat digunakan sebagai minyak atsiri (Jos dalam Maulida, 2010). Selain itu, heksana dapat digunakan sebagai solven untuk mengekstraksi karotenoid dari CPO. Solven campuran antara heksana dan benzena dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak dari kopra. Sedangkan solven campuran antara heksana dan isopropanol dapat digunakan dalam penurunan kadar limbah sintetis asam fosfat dengan ekstraksi cair-cair (Mahmudi dalam Maulida, 2010).

Karotenoid bersifat tidak larut dalam air, metanol, etanol dingin, larut dengan baik dalam pelarut-pelarut organik seperti karbon disulfida, benzena, kholoform, aseton, eter dan petroleum eter (Ketaren, 2005). Gunawan (2009) dalam Purnamasari (2013) menyatakan bahwa fraksinasi MSK dengan pelarut heksana menghasilkan konsentrat dengan total rendemen bobot dan total recovery  $\beta$ -karoten yang lebih tinggi, sedangkan dengan pelarut aseton menghasilkan tingkat pemekatan  $\beta$ -karoten yang lebih tinggi. Walaupun karoten memiliki banyak keunggulan tetapi senyawa ini juga memiliki sifat yang sangat labil terhadap panas dan reaksi oksidasi (Eskin, 1979) sehingga membatasi penggunaannya dalam produk pangan dan farmasi.

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Berdasarkan tujuannya, penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental. Sugiyono (2011) menyatakan bahwa penelitian eksperimental dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena kondisi lingkungan yang dibuat homogen atau sama sehingga yang berpengaruh dalam penelitian adalah hanya perlakuan yang diberikan yakni jenis konsentrasi pelarut.

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Ekstrak 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**

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Agustus - Oktober 2015.

### **3.3 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini, 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, akuades, waktu pengujian, umur larva, dan lingkungan laboratorium.

## 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, waterbath, thermometer, pengaduk, kain kasa, lidi, kaca benda, kaca penutup, mikroskop, kamera, kertas saring dan corong bucher, *rotary evaporator*, *Ultrasonic Clearning*, volumetric atau timbangan analitik, lemari es, pisau dan kertas alumunium foil, sendok, gelas pengaduk, gelas.

### 3.4.2 Bahan

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

### 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. 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 mikroorganismen yang digunakan untuk menarik komponen non polar dengan menggunakan pelarut polar yaitu etanol 50%, 70%, 96%, PA.
- c. *Lethal concentration* 50% (LC<sub>50</sub>) 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<sub>50</sub>) 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. Pada penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* (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 pipet. 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 pendahuluan menggunakan 10 ekor larva dan uji akhir digunakan 20 ekor larva tiap wadahnya.
- b. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larva nyamuk *Aedes aegypti* L. stadium akhir instar III sampai awal instar IV. Pengambilan sampel penelitian dengan cara menghomogenkan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akhir instar III sampai awal instar IV dengan ukuran 4-6 mm dan dilakukan identifikasi sifon (alat pernafasan panjang berwarna hitam).

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Penyiapan 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 ITD UNAIR dilakukan dengan cara pengamatan mikroskopis. Pengamatan tersebut meliputi morfologi dari telur *Aedes 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 kasa. 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 :

1) Pelarut etanol 50%

Untuk membuat pelarut etanol 50% yaitu dengan melarutkan etanol teknis (96%) sebanyak 208,333 ml ke dalam aquades sebanyak 191,667 ml.

2) 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.

3) Pelarut etanol 96%

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

4) Pelarut etanol PA

### 3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Tahap pertama dalam pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu dengan tahap persiapan pemilihan daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari daerah 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.

Daun sirih dikering anginkan selama 7 hari sampai mencapai berat konstan, di oven selama 1 hari dengan suhu 42,1 °C ,hal tersebut bertujuan untuk memastikan kadar air sudah hilang. Kemudian daun sirih diblender menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk. Diambil 100 gr 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.

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. Proses penguapan dihentikan sebelum pekat, kemudian dilakukan proses fraksinasi yaitu dengan memindahkan ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol ke dalam corong pisah lalu menambahkan larutan n-heksan sebanyak sama dengan jumlah ekstrak yang diperoleh (perbandingan 1:1) untuk semua konsentrasi pelarut, kemudian dikocok dan didiamkan sampai kedua larutan memisah. Ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol yang sudah difraksinasi sampai benar-benar memisah dengan larutan n-heksan mulai dialirkan ke dalam *beaker glass* untuk selanjutnya dilanjutkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* atau *water bath*. 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. 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 Pembuatan Serial Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih dengan berbagai konsentrasi etanol

Dalam penelitian ini digunakan berbagai macam serial konsentrasi, untuk mendapatkan serial konsentrasi daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan pelarutan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) ke dalam medium larva (air) dengan perbandingan tertentu sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan menggunakan pedoman :

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg zat terlarut}}{1 \text{ L Larutan}}$$

dan menggunakan rumus  $V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$

### 3.7.5 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan pada uji akhir atau uji sesungguhnya. Pada uji pendahuluan ini bertujuan untuk melihat apakah ekstrak yang dibuat bersifat toksik terhadap larva, serta mengetahui konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol yang digunakan sebagai acuan untuk mencari rentangan serial konsentrasi pada uji akhir.

Telah dilakukan uji pendahuluan dan diperoleh konsentrasi yang mematikan 1 larva sebesar 400 ppm untuk pelarut etanol 70%, 96%, PA, dan 500 ppm untuk pelarut etanol 50%, sedangkan konsentrasi yang mematikan lebih dari 50% dari jumlah larva yakni sebesar 2000 ppm untuk semua konsentrasi pelarut.

Berikut tahap uji pendahuluan

- a. Menyiapkan larva nyamuk *Aedes aegypti* akhir instar III sampai awal instar IV.
- b. Menyiapkan 6 wadah yang diisi air sampai dengan volume 500 ml
- c. Memasukkan masing-masing 1 gram ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 50%, 70%, 96%, dan PA pada 4 wadah berbeda, sementara 2 wadah lainnya sebagai kontrol positif (+) dan negatif (-).
- d. Memasukkan 10 larva uji pada masing-masing wadah kemudian ditutup dengan kain kasa.
- e. Menambahkan air sebanyak 500 ml setiap 48 jam sekali, dan sekaligus mengganti larva sebelumnya dengan 10 larva instar III dan instar IV baru.
- f. Mengamati mortalitas larva dengan melakukan pengamatan setiap 24 jam sekali. Larva mati ditandai dengan tidak Bergeraknya larva saat disentuh menggunakan ujung pipet tetes. Untuk pengamatan kematian larva secara kimia dilakukan dengan menetskan larutan eosin ke atas larva, apabila larva berwarna pucat atau transparan maka larva tersebut benar-benar mati.

### 3.7.6 Uji Akhir

Pada pengujian akhir ditentukan beberapa macam konsentrasi, atau pembandingan insektisida sintetik, yaitu serbuk abate 1 ppm. Cara kerja pada uji sesungguhnya berbeda dengan uji pendahuluan, masing perlakukan diisi 20 larva dengan 3 ulangan. Pada uji akhir ini serial konsentrasi yang digunakan mengacu pada hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan. Selain itu pada uji akhir ini juga dilakukan pengamatan morfologi larva yang mati.

Tahap uji akhir penelitian dijelaskan sebagai berikut :

- a. Menyiapkan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akhir instar III sampai awal instar IV, serta menyiapkan wadah yang diisi dengan masing-masing lima serial konsentrasi ekstrak daun sirih. Untuk ekstrak dengan pelarut etanol 50% terdiri atas 450 ppm, 1000 ppm, 1550 ppm, 2100 ppm, dan 2650 ppm, untuk ekstrak dengan pelarut etanol 70% terdiri atas 400 ppm, 900 ppm, 1400 ppm, 1900 ppm dan 2400 ppm. Untuk ekstrak dengan pelarut etanol 96% terdiri atas 400 ppm, 850 ppm, 1250 ppm, 1650 ppm dan 2050 ppm, sedangkan untuk ekstrak dengan pelarut etanol PA terdiri atas 400 ppm, 650 ppm, 900 ppm, 1150 ppm dan 1400 ppm serta dua wadah untuk kontrol masing-masing satu kontrol negatif (K-) dan satu kontrol positif (K+). Semua perlakuan tersebut dilakukan dengan tiga kali pengulangan.
- b. Secara perlahan-lahan memasukkan 20 ekor larva *Aedes aegypti* pada tiap wadah yang sudah diberi perlakuan ekstrak daun sirih. Wadah kemudian ditutup dengan kain kasa.
- c. Mengamati jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setiap 6 jam selama 48 jam pengamatan.
- d. Menganalisis jumlah larva yang mati.

Berikut merupakan rancangan penelitian untuk uji akhir

Tabel 3.1 Rancangan Uji Akhir

## 3.1.1 Rancangan uji akhir ekstrak daun sirih dengan konsentrasi etanol 50%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
<b>EL1</b>	EL1U1	EL1U2	EL1U3
<b>EL2</b>	EL2U1	EL2U2	EL2U3
<b>EL3</b>	EL3U1	EL3U2	EL3U3
<b>EL4</b>	EL4U1	EL4U2	EL4U3
<b>EL5</b>	EL5U1	EL5U2	EL5U3

Keterangan :

EL 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% konsentrasi 450 ppm

EL 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% konsentrasi 1000 ppm

EL 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% konsentrasi 1550 ppm

EL 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% konsentrasi 2100 ppm

EL 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 50% konsentrasi 2650 ppm

U : Ulangan

## 3.1.2 Rancangan uji akhir ekstrak daun sirih dengan konsentrasi etanol 70%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
<b>EL1</b>	EL1U1	EL1U2	EL1U3
<b>EL2</b>	EL2U1	EL2U2	EL2U3
<b>EL3</b>	EL3U1	EL3U2	EL3U3
<b>EL4</b>	EL4U1	EL4U2	EL4U3
<b>EL5</b>	EL5U1	EL5U2	EL5U3

Keterangan :

EL 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% konsentrasi 400 ppm

EL 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% konsentrasi 900 ppm

EL 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% konsentrasi 1400 ppm

EL 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% konsentrasi 1900 ppm

EL 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 70% konsentrasi 2400 ppm

U : Ulangan

## 3.1.3 Rancangan uji akhir ekstrak daun sirih dengan konsentrasi etanol 96%

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
<b>EL1</b>	EL1U1	EL1U2	EL1U3
<b>EL2</b>	EL2U1	EL2U2	EL2U3
<b>EL3</b>	EL3U1	EL3U2	EL3U3
<b>EL4</b>	EL4U1	EL4U2	EL4U3
<b>EL5</b>	EL5U1	EL5U2	EL5U3

Keterangan :

- EL 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% konsentrasi 400 ppm  
 EL 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% konsentrasi 850 ppm  
 EL 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% konsentrasi 1250 ppm  
 EL 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% konsentrasi 1650 ppm  
 EL 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol 96% konsentrasi 2050 ppm  
 U : Ulangan

## 3.1.4 Rancangan uji akhir ekstrak daun sirih dengan konsentrasi etanol PA

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)		
	Pengamatan 24 jam		
	Ulangan ke-		
	1	2	3
<b>K+</b>	K+U1	K+U2	K+U3
<b>K-</b>	K-U1	K-U2	K-U3
<b>EL1</b>	EL1U1	EL1U2	EL1U3
<b>EL2</b>	EL2U1	EL2U2	EL2U3
<b>EL3</b>	EL3U1	EL3U2	EL3U3
<b>EL4</b>	EL4U1	EL4U2	EL4U3
<b>EL5</b>	EL5U1	EL5U2	EL5U3

Keterangan :

- K+ : Kontrol positif (abate 100 ppm)  
 K- : Kontrol negatif (tween 80)  
 EL 1 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA konsentrasi 400 ppm  
 EL 2 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA konsentrasi 650 ppm  
 EL 3 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA konsentrasi 900 ppm  
 EL 4 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA konsentrasi 1150 ppm  
 EL 5 : Ekstrak daun sirih pelarut etanol PA konsentrasi 1400 ppm  
 U : Ulangan

### 3.8 Parameter Yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- a. Toksisitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* 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.
- b. Perubahan suhu. Pengamatan suhu dilakukan dengan termometer dilakukan 2 kali setiap dengan interval waktu pengamatan 6 jam.

### 3.9. Analisis Data

Terdapat beberapa hal yang dianalisis dalam penelitian ini, yaitu :

- a. 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

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

- b. Untuk menentukan nilai  $LC_{50}$   $LC_{90}$  24 jam dan 48 jam, serta  $LT_{50}$  24 jam dan 48 jam dari serial konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol digunakan Analisis Probit.
- c. Untuk mengetahui apakah semua perlakuan dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) berbeda nyata atau tidak dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA), jika terdapat beda maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf 5%. *Software* yang digunakan adalah SPSS ver 17.0.

### 3.10 Alur Penelitian

