



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

SKRIPSI

Oleh

**Alfiliya Fauziyah Fatrowie
NIM 110210103018**

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



**PERBEDAAN TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)
DENGAN BERBAGAI JENIS PELARUT TERHADAP MORTALITAS
LARVA NYAMUK *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

**Alfiliya Fauziah Fatrowie
NIM 110210103018**

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

PERSEMBAHAN

Dengan Rahmat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang serta junjungan Nabi Muhammad SAW, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Kedua orang tua tercinta, ayahanda Alm. Nahrawi terimakasih atas limpahan kasih sayang semasa hidup dan memberikan rasa rindu yang berarti serta Ibunda tercinta Siti Fathonah terimakasih atas limpahan doa, kasih sayang serta semangat untuk tidak berputus asa.
2. Saudaraku tercinta Ahmad Faizal dan Mochammad Aditya terimakasih atas doa dan semangatnya.
3. Segenap dosen Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember terimakasih telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
4. Para guru yang telah memberikan ilmu, mendidik, membimbing dengan penuh ikhlas dan kesabaran.
5. Para sahabat tercinta Naradia Widastuti, Ike Nurjannah, Tantri Yosica Restu serta Ahmad Afandi yang selalu menemani serta memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi ini.
6. Teman-teman Pendidikan Biologi 2011 FKIP Universitas Jember, terima kasih atas dukungan dan kebersamaan selama mengikuti masa perkuliahan.
7. Almamater Universitas Jember yang kubanggakan.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain).”

(Terjemahan QS. Al-Insyirah Ayat :6-7)*

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2000. Al Qur'an dan Terjemahan. Semarang : CV. Asy Syifa'

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alfiliya Fauziyah Fatrowie

NIM : 110210103018

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

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

Jember, Desember 2015

Yang menyatakan,

Alfiliya Fauziyah Fatrowie
NIM 110210103018

SKRIPSI

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

Oleh

Alfiliya Fauziyah Fatrowie
NIM 110210103018

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.
Dosen Pembimbing II : Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.

PERSETUJUAN

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

SKRIPSI

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

Oleh

Nama Mahasiswa : Alfiliya Fauziyah Fatrowie
NIM : 110210103018
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2011
Tempat, Tanggal Lahir : Bondowoso, 10 Oktober 1993

Disetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

PENGESAHAN

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

hari :

tanggal :

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

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

Anggota I,

Anggota II,

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

Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19870526 201212 1 002

Mengesahkan,

Dekan FKIP Universitas Jember

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

RINGKASAN

Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.; Alfiliya Fauziyah Fatrowie, 110210103018, 2015; 207 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan vektor penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) yang menjadi penyakit endemik di negara-negara tropis salah satunya Indonesia. Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai vektor perlu dilakukan secara tepat dengan cara memotong siklus hidupnya pada saat tahap larva menggunakan larvasida alami. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) telah terbukti mengandung senyawa aktif yang bersifat toksik pada larva *Aedes aegypti* L., senyawa aktif tersebut ditarik oleh suatu pelarut pada saat proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pada penelitian ini, peneliti melakukan ekstraksi menggunakan berbagai macam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Untuk pelarut yang bersifat non polar menggunakan n-heksana, semipolar menggunakan pelarut etil asetat dan untuk pelarut yang bersifat polar menggunakan pelarut metanol.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya perbedaan toksisitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan berbagai jenis pelarut (n-heksana., etil asetat dan metanol) yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀, LC₉₀ dan LT₅₀, LT₉₀ mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam selain itu, untuk mengetahui kondisi air yang meliputi warna dan bau 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. Penelitian ini menggunakan tiga macam pelarut yang mempunyai sifat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol yang diekstraksi secara

bertingkat. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Entomologi ITD (*Institute of Tropical Disease*) UNAIR Surabaya. Data hasil diuji menggunakan SPSS statistik 17.0.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa semakin lama waktu pemaparan dan semakin tinggi serial konsentrasi (ppm) ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan berbagai jenis pelarut maka semakin tinggi pula tingkat mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Hasil analisis data, nilai LC₅₀ dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam berturut-turut untuk pelarut n-heksan adalah 1467,53 ppm dan 964,97 ppm, untuk pelarut etil asetat adalah 1095,16 ppm dan 826,018 ppm, sedangkan untuk pelarut metanol 1378,39 ppm dan 1130,51 ppm. Hasil penelitian untuk LC₉₀ dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam berturut-turut untuk pelarut n-heksan adalah 2001,26 ppm dan 1468,08 ppm, untuk pelarut etil asetat adalah 1253,94 ppm dan 1131,34 ppm, dan untuk pelarut metanol adalah 2319,74 ppm dan 1877,75 ppm.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut etil asetat mempunyai daya bunuh larva uji paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut n-heksana dan metanol. Kondisi air setelah penambahan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terjadi perubahan warna serta mempunyai bau khas daun sirih. Hendaknya dilakukan penelitian lanjutan terkait dampak penggunaan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol setelah ekstrak diaplikasikan pada kehidupan sehari-hari serta hendaknya dilakukan pembuatan granul agar lebih tahan lama dan lebih mudah untuk diaplikasikan.

PRAKATA

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat, karunia serta kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *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. Dosen Pembimbing I Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes. dan Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si, selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dosen Penguji I Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D. dan Bapak Bevo Wahono, S.Pd.,M.Pd. selaku Dosen Penguji II atas kritik serta saran demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Ibu Dra. Pujiastuti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Semua Dosen Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, atas semua ilmu dan bimbingan yang diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;

8. Kedua orang tua, Ayahanda tercinta Alm. Nahrawi dan Ibunda Siti Fathonah serta adik-adikku, Ahmad Faizal dan M.Aditya atas segala doa, perhatian dan semangat yang tanpa henti sampai terselesaikannya skripsi ini;
9. Sahabat-sahabat tercintaku, Ike Nurjannah, Tantri Yosica Restu, Naradia Widastuti yang selalu menemani dan menyemangati hingga terselesaikannya skripsi ini, terimakasih pinjaman laptopnya Ahmad Afandi;
10. Teman-teman Pendidikan Biologi 2011 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih telah memberikan dukungan, motivasi, semangat serta kenangan terindah yang tak akan terlupakan;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	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	xvii
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Sirih Hijau	8
2.1.1 Klasifikasi Sirih Hijau	8
2.1.2 Morfologi Tanaman Sirih Hijau	9
2.1.3 Manfaat Tanaman Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	9

2.1.4	Senyawa – senyawa yang terkandung dalam Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	10
2.1.5	Sifat Senyawa Kimia dalam Ekstrak Daun Sirih Hijau	11
2.2	Simplisia	13
2.2.1	Pengertian Simplisia	13
2.2.2	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kualitas Simplisia	13
2.3	Ekstraksi	14
2.3.1	Jenis Metode Ekstraksi	15
2.4	Pelarut dalam Ekstraksi	17
2.4.1	Macam – Macam Pelarut	17
2.1	Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	18
2.5.1	Klasifikasi <i>Aedes aegypti</i> L.	18
2.5.2	Morfologi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	19
2.5.3	Penyebaran Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	20
2.5.4	Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	20
2.5.5	Habitat <i>Aedes aegypti</i> L.	25
2.5.6	Perbedaan Nyamuk <i>Aedes</i> sp. <i>Culex</i> sp. <i>Anopheles</i> sp.	26
2.5.7	Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Kehidupan Vektor ...	28
2.2	Hipotesis Penelitian	29
BAB 3.	METODE PENELITIAN	30
3.1	Jenis Penelitian	30
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2.1	Tempat Penelitian	30
3.2.2	Waktu Penelitian	30
3.3	Identifikasi Variabel	30
3.3.1	Variabel Bebas	31
3.3.2	Varibel Terikat	31
3.3.3	Variabel Kontrol	31
3.4	Alat dan Bahan	31

3.4.1	Alat	31
3.4.2	Bahan	31
3.5	Definisi Operasional	32
3.6	Jumlah dan Kriteria Sampel	33
3.7	Prosedur Penelitian	33
3.7.1	Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	33
3.7.2	Pembuatan Serial Konsentrasi Larutan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	35
3.7.3	Persiapan Larva Uji	35
3.7.4	Tahap Uji Pendahuluan	36
3.7.5	Uji Akhir	38
3.7.6	Analisis Data	40
3.7.7	Parameter yang Diamati	41
3.7.8	Alur Penelitian	42
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1	Hasil Penelitian	43
4.1.1	Identifikasi Morfologi Telur dan Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	43
4.1.2	Hasil Uji KLT	45
4.1.3	Identifikasi Morfologi larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Sebelum dan Sesudah Pemberian Perlakuan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut	46
4.1.4	Hasil Pengujian Pendahuluan	47
4.1.5	Hasil Uji Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut	50
4.1.6	Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut N-heksan terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	50
4.1.7	Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Etil asetat terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	57
4.1.8	Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Metanol	

terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	64
4.1.9 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut N-heksana, Etil asetat dan Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	70
4.1.10 Kondisi Air (Warna dan Aroma Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut	71
4.2 Pembahasan	72
4.2.1 Identifikasi Morfologi Telur Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	72
4.2.2 Identifikasi Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	73
4.2.3 Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana	73
4.2.4 Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	74
4.2.5 Gejala Keracunan Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Akibat Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana, Etil Asetat dan Metanol	79
4.2.6 Kondisi Air Setelah Penambahan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut	81
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	82
5.1 Kesimpulan	82
5.2 Saran	83
DAFTAR PUSTAKA	84

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Sirih	11
Tabel 2.2 Sifat Kimia dan Fisika n-Heksana	18
Tabel 3.1 Rancangan Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Berbagai Jenis Pelarut	37
Tabel 3.2 Rancangan Uji Akhir Pengamatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut n-Heksana	39
Tabel 3.3 Rancangan Uji Akhir Pengamatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Etil Asetat	39
Tabel 3.4 Rancangan Uji Akhir Pengamatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Metanol	40
Tabel 4.1 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam.	48
Tabel 4.2 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat pada 24 jam dan 48 jam.	48
Tabel 4.3 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol pada Waktu Dedah 24 jam dan 48 jam.	49
Tabel 4.4 Hasil Perhitungan Uji Rendemen ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Berbagai Pelarut.	50
Tabel 4.5 Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir Perlakuan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	

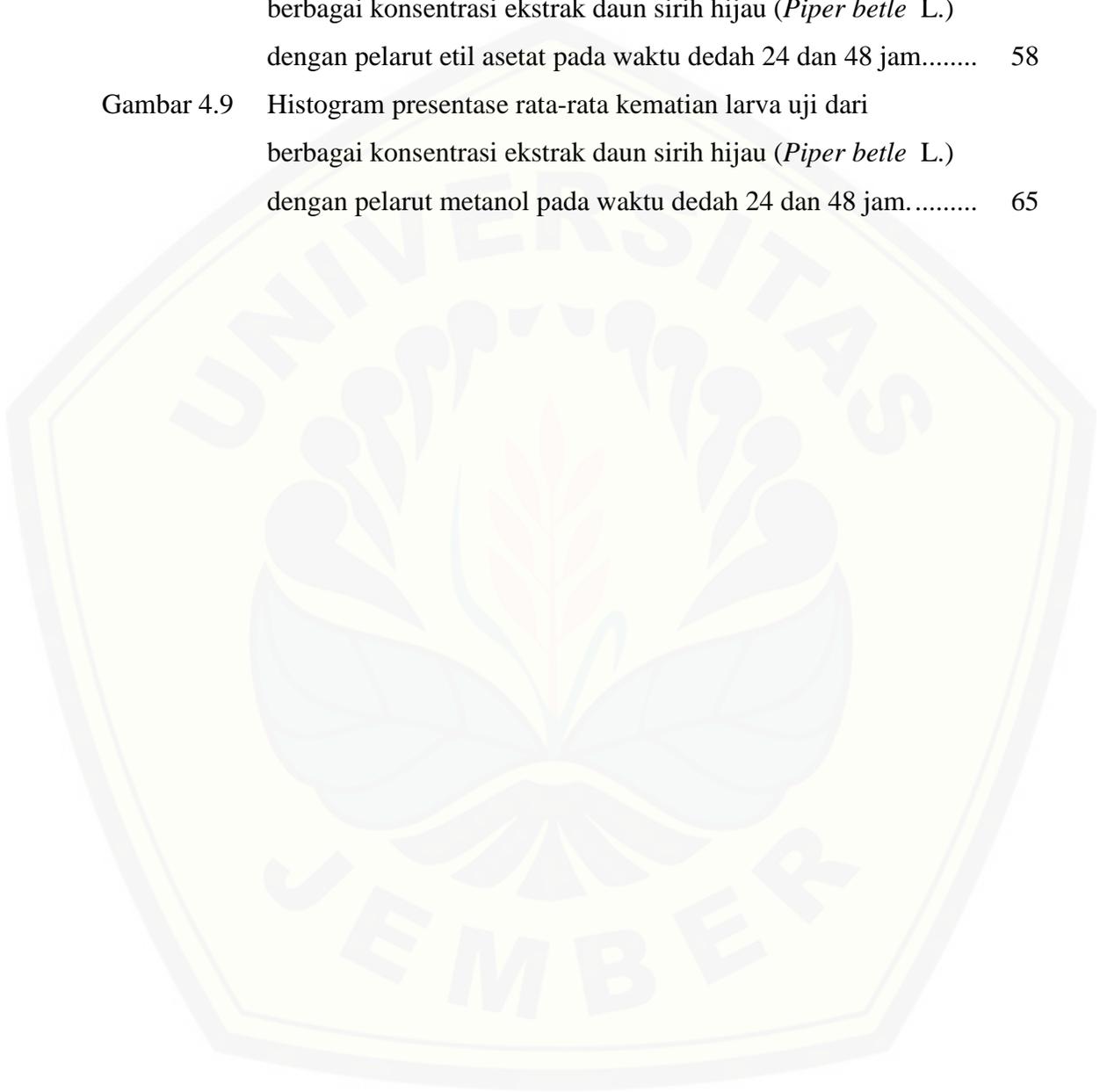
	dengan Pelarut N-Heksana pada Masa Dedah 24 Jam dan 48 Jam.	51
Tabel 4.6	Analisis Probit Nilai LC ₅₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-Heksana terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	53
Tabel 4.7	Analisis Probit Nilai LC ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	54
Tabel 4.8	Probit Nilai LT ₅₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	55
Tabel 4.9	Analisis Probit Nilai LT ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut N-heksana terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	56
Tabel 4.10	Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir Perlakuan Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat pada Masa Dedah 24 jam dan 48 jam.	57
Tabel 4.11	Analisis Probit Nilai LC ₅₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	59
Tabel 4.12	Analisis Probit Nilai LC ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	60
Tabel 4.13	Analisis Probit Nilai LT ₅₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	62
Tabel 4.14	Analisis Probit Nilai LT ₉₀ Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Etil asetat terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	63

Tabel 4.15	Mortalitas (%) Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Pada Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol dengan Masa Dedah 24 jam dan 48 jam.	64
Tabel 4.16	Analisis Probit Nilai LC_{50} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	66
Tabel 4.17	Analisis Probit Nilai LC_{90} Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	67
Tabel 4.18	Analisis Probit Nilai LT_{50} Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	68
Tabel 4.19	Analisis Probit Nilai LT_{90} Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	69
Tabel 4.20	Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut N-heksana, Etil asetat dan Metanol terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	70
Tabel 4.21	Hasil Pengamatan Kondisi Air pada Berbagai Perlakuan (<i>Piper betle</i> L.) dengan Pelarut Metanol Waktu dedah 24 jam.	71 72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	9
Gambar 2.2 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L.	21
Gambar 2.3 Telur Nyamuk Demam Berdarah <i>Aedes aegypti</i> L.	21
Gambar 2.4 Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	23
Gambar 2.5 Pupa Nyamuk Demam Berdarah <i>Aedes aegypti</i> L.	23
Gambar 2.6 Nyamuk Dewasa <i>Aedes aegypti</i> L.	25
Gambar 2.7 Perbedaan Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes sp</i> , <i>Culex sp</i> , <i>Anopheles sp</i>	27
Gambar 4.1 Telur Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	43
Gambar 4.2 Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	44
Gambar 4.3 Hasil Uji KLT indikator keberadaan senyawa Terpenoid pada ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan pelarut n-heksana dan pelarut etil asetat	45
Gambar 4.4 Hasil uji KLT indikator keberadaan senyawa Flavonoid pada ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan pelarut metanol.	47
Gambar 4.5 Perbandingan larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. tanpa perlakuan, setelah perlakuan abate 100 ppm, setelah perlakuan ekstrak <i>Piper betle</i> L. pelarut n-heksan, setelah perlakuan ekstrak <i>Piper betle</i> L. pelarut etil asetat, setelah perlakuan ekstrak <i>Piper betle</i> L. pelarut metanol.	46
Gambar 4.6 Perbandingan larva <i>Aedes aegypti</i> L. sebelum dan sesudah perlakuan.	47
Gambar 4.7 Histogram presentase rata-rata kematian larva uji dari berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.)	

	dengan pelarut n-heksana pada waktu dedah 24 dan 48 jam.....	52
Gambar 4.8	Histogram presentase rata-rata kematian larva uji dari berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan pelarut etil asetat pada waktu dedah 24 dan 48 jam.....	58
Gambar 4.9	Histogram presentase rata-rata kematian larva uji dari berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan pelarut metanol pada waktu dedah 24 dan 48 jam.....	65



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Matriks Penelitian	92
Lampiran B. Foto Penelitian	94
Lampiran C. Hasil Pengamatan Uji Akhir	98
Lampiran E. Analisis Probit Untuk LC_{50} dan LC_{90}	101
Lampiran F. Analisis Probit Untuk LT_{50} dan LT_{90}	126

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Aedes aegypti L. merupakan nyamuk yang berperan sebagai vektor berbagai macam penyakit diantaranya Demam Berdarah *Dengue* (DBD). Penyakit Demam Berdarah telah mendapatkan cukup perhatian dari pemerintah, karena penderita penyakit ini terus meningkat tiap tahunnya. World Health Organization (WHO) melaporkan lebih dari 2,5 miliar orang dari 2/5 populasi dunia saat ini beresiko terinfeksi virus dengue. Jumlah negara yang melaporkan kasus Demam Berdarah *Dengue* dari tahun ke tahun terus bertambah. Tercatat, tahun 2007 ada 68 negara yang melaporkan kasus ini. Jumlah tersebut meningkat dari tahun 1999 dimana hanya 29 negara saja yang melaporkan. Saat ini, lebih dari 100 negara di Afrika, Amerika, Mediterania Timur, Asia Tenggara dan Pasifik Barat merupakan wilayah dengan dampak Demam Berdarah *Dengue* serius. Perluasan wilayah yang melaporkan kasus Demam Berdarah *Dengue* juga terjadi di Indonesia. Jumlah kabupaten atau kota yang menjadi endemis dari tahun ke tahun meningkat (Depkes, 2013).

Upaya pencegahan penyakit demam berdarah yang paling umum bagi masyarakat yakni dengan cara 3M, hanya saja upaya tersebut cenderung dilihat sebagai hal yang sepele bagi kebanyakan masyarakat, masyarakat cenderung melakukan upaya tersebut setelah kasus. Kebijakan lain dari pemerintah dalam pengendalian vektor penyebab Demam Berdarah *Dengue* juga dengan melakukan pengasapan (*fogging*) secara massal di daerah yang terjangkit penyakit dan membagikan larvasida sintesis secara gratis (Adimidjaya, 2006). Penggunaan pestisida sintetik secara terus-menerus dan berulang-ulang dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, kematian berbagai macam jenis makhluk hidup dan resistensi dari hama yang diberantas (Metcalf dan Luckmann, 1982; Schutterer, 1990 dalam Nursal dan Pasaribu 2003). Seluruh upaya di atas dilakukan untuk menekan jumlah populasi nyamuk *Aedes aegypti* L. Menurut Aulung (2010) salah satu cara

untuk menekan populasi *Aedes aegypti* L. yaitu dengan memutus siklus hidupnya pada stadium larva.

Pemutusan siklus hidup menggunakan larvasida sintesis salah satunya adalah menggunakan bubuk abate. Abate digunakan dengan dosis 1 ppm (*part permillion*), yaitu setiap 1 gram Abate 1 % untuk setiap 10 liter air. Setelah ditaburkan ke dalam air maka butiran pasir Abate akan jatuh sampai ke dasar dan racun aktifnya akan keluar serta menempel pada pori-pori dinding tempat air, dengan sebagian masih tetap berada dalam air. Tujuan abatisasi adalah untuk menekan kepadatan vektor serendah-rendahnya secara serentak dalam jangka waktu yang lebih lama, agar transmisi virus dengue selama waktu tersebut dapat diturunkan (Tim Field Lab FK UNS, 2015). Namun, mulai beberapa tahun belakangan ini, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Tengah sudah mengurangi penggunaan abate, menurut Kepala Seksi Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang, Dinas Kesehatan Klaten, Herry Martanto, mengatakan bahwa penggunaan abate memang diperbolehkan untuk mencegah berkembang biaknya jentik nyamuk di dalam sebuah tampungan air, tapi jika hal itu dilakukan terus menerus akan menyebabkan karsinogenik bahan kimia dalam tubuh yang menyebabkan kanker jika berlangsung dalam waktu lama hal ini dikarenakan abate mengandung bahan kimia yang dapat menyebabkan kanker dalam tubuh (Liputan6.com, 2011).

Pemutusan siklus hidup larva yang aman bagi lingkungan dapat menggunakan insektisida alami. Insektisida alami merupakan insektisida yang terbuat dengan pemanfaatan ekstrak tumbuhan. Ekstrak tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai insektisida sebenarnya merupakan hasil dari metabolisme tumbuhan dalam pertumbuhan dan perkembangannya. Senyawa bioaktif tersebut dikenal sebagai metabolit sekunder (senyawa buangan) (Vickery & vickery, 1981 dalam Harwanto, 2012). Metabolit sekunder tanaman merupakan metabolit yang tidak mempunyai arti penting bagi kebutuhan nutrisi akan tetapi mempunyai peran penting melindungi tumbuhan dari serangan hewan herbivora dan infeksi mikroba (Panda & Khush, 1995 dalam Harwanto, 2012).

Pembuatan insektisida alami telah marak di Indonesia, menurut Krisdiyanta (2004) bahan insektisida yang baik untuk dikembangkan adalah insektisida hayati yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau disebut insektisida botani. Insektisida botani memiliki kelebihan, antara lain mudah cara membuatnya, bahan yang digunakan relatif lebih murah, mudah tergradgradiasi sehingga lebih aman terhadap manusia dan ternak, bersifat spesifik (Kardinan, 2001).

Insektisida botani yang banyak dikembangkan untuk menjadi larvasida, salah satunya menggunakan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Tanaman sirih atau *Chavica betle* L. atau pula *Piper betle* L. termasuk familia Piperaceae. Daun sirih memang telah secara tradisional digunakan oleh orang – orang tua kita, ini berarti telah sejak dahulu diketahui khasiatnya sebagai bahan obat (Kartasapoetra, 1996). pada penelitian ini peneliti memilih tanaman sirih hijau dengan memanfaatkan bagian daunnya. Menurut penelitian Kusumaningrum (2007) ekstrak daun sirih hijau dapat menyebabkan mortalitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan hasil LC₅₀ 24 jam dan 48 larva *Aedes aegypti* L berturut-turut adalah 0,04903% dan 0,03730%, sedangkan LC₉₀ 24 jam dan 48 jam berturut-turut adalah 0,07511% dan 0,05713%.

Daun sirih hijau mengandung beberapa golongan senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterenoid, tanin, minyak atsiri dan kumarin (Inayati, 2010). yang terbukti bersifat racun atau *toksik* bagi larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman dapat ditarik oleh suatu pelarut saat proses ekstraksi (Astarina, 2013). Fungsi pelarut pada ekstraksi dapat memecah membran yang terdapat pada permukaan partikel-partikel jaringan (Maulana *et al*, 2012). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi (Astarina *et al*, 2013). Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyaring sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008). Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun juga, dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Sampurno, 2000).

Pembuatan larvasida daun sirih umumnya menggunakan pelarut etanol, menurut Arambawela *et al.*, (2006) daun sirih hijau yang diekstrak dengan pelarut etanol 80% dapat menghasilkan ekstrak yang mengandung senyawa fenol lebih tinggi daripada pelarut air. Ekstrak etanol daun sirih hijau lebih efektif daripada daun sirih yang diekstrak dengan pelarut air dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Kaveti *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa pelarut etanol memiliki kemampuan menarik senyawa metabolit lebih baik daripada air, namun peneliti sebelumnya belum melakukan penelitian dengan menggunakan pelarut lain yang mungkin saja memiliki kemampuan menarik senyawa metabolit yang lebih baik. Ada 2 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 terpisah dengan cepat 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, 1981 dalam Aminarsi *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini, peneliti ingin melakukan penelitian dengan melakukan ekstraksi menggunakan berbagai macam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Untuk pelarut yang bersifat non polar menggunakan n-heksan, semipolar menggunakan pelarut etil asetat dan untuk pelarut yang bersifat polar menggunakan pelarut metanol. Proses ekstraksi dilakukan secara bertingkat dimulai dengan pelarut non polar, semi polar dan polar sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung berturut-turut senyawa non polar, semi polar dan polar.

N-heksan merupakan pelarut yang paling ringan dalam mengangkat minyak yang terkandung dalam biji-bijian dan mudah menguap sehingga memudahkan untuk *refluk*. Pelarut ini memiliki titik didih antara 65–70 °C. Etil asetat merupakan jenis pelarut yang bersifat semi polar. Pelarut ini memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77°C sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi (Diana *et al.*, 2012). Sedangkan Metanol merupakan pelarut yang bersifat

universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985 dalam Astarina *et al*, 2013). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin melakukan penelitian yang berjudul “Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) dengan Berbagai Jenis Pelarut terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.”

1.2 Rumusan Masalah

- a. Berapakah besar toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut N-heksan terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- b. Berapakah besar toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut Etil asetat terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- c. Berapakah besar toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut Metanol terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam?
- d. Bagaimanakah perbedaan toksisitas berbagai jenis pelarut dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.?
- e. Bagaimanakah kondisi air (meliputi warna dan aroma) setelah penambahan ekstrak daun sirih hijau dengan berbagai macam pelarut ?

1.3 Tujuan penelitian

- a. Mengetahui besarnya toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut n-heksan terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- b. Mengetahui besarnya toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut etil asetat terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

- c. Mengetahui besarnya toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut metanol terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam dan 48 jam.
- d. Mengetahui perbedaan toksisitas berbagai jenis pelarut dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L..
- e. Mengetahui kondisi air (meliputi warna dan aroma) setelah penambahan ekstrak daun sirih hijau dengan berbagai macam pelarut.

1.4 Batasan Masalah

Agar penelitian ini dapat terarah dan dapat mengurangi kerancuan pada objek yang akan diteliti, maka ada batasan masalah sebagai berikut :

- a. toksisitas dalam penelitian ini adalah besarnya LC_{50} dan LT_{50} ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam dan 48 jam;
- b. daun sirih yang digunakan pada penelitian adalah 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 yang diperoleh dari Kecamatan Patrang Kabupaten Jember;
- c. pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada penelitian ini adalah N-heksan, Etil asetat dan Metanol yang nantinya pada akhir penelitian diharapkan dapat menunjukkan adanya perbedaan;
- d. larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang dipakai adalah larva instar III akhir-IV awal yang dibiakkan dari telur nyamuk *Aedes aegypti* L. yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi *Institute Tropical Disease* (ITD) UNAIR, 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* L. 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;

- e. kematian atau mortalitas larva ditunjukkan dengan tidak adanya gerakan saat disentuh dengan pipet tetes dan tenggelam pada dasar gelas;

1.5 Manfaat penelitian

- a. Akademik

Memberikan informasi lebih terkait dengan pemanfaatan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L. serta pemaksimalan dalam proses ekstraksi dengan cara pemilihan larutan yang tepat saat proses ekstraksi.

- b. Bagi peneliti

Menambah pengetahuan terkait dengan penggunaan berbagai larutan dalam proses ekstraksi, khususnya pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* L.

- c. Bagi masyarakat

Memberikan informasi tentang pemanfaatan ekstrak daun sirih yang dapat digunakan sebagai alternatif pembunuh nyamuk yang aman dan ramah lingkungan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirih Hijau

Tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) termasuk dalam famili Piperaceae yang secara umum telah diketahui sejak lama sebagai penyegar mulut, pada keluarga Indian daun sirih biasanya dikonsumsi setelah makan siang dan makan malam (Alam, 2011). Rasa segar yang didapat setelah mengunyah daun sirih karena daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki daya antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen. Minyak esensial daun sirih mengandung komponen fenolik seperti kavikol dan eugenol (Jenie, 2001 dalam Mahardika, 2012).

Piper betle L. merupakan tanaman merambat menyerupai tanaman merica yang mempunyai rasa seperti rempah-rempah. (Kloppenbunrg, 1996). Sirih dapat tumbuh subur pada tanah yang kaya zat organik dan cukup air. Tanaman ini tumbuh pada daerah dengan ketinggian mencapai 300 m di atas permukaan laut (Handayani, 2012). Tanaman ini mudah didapat, dan sering ditanam dipekarangan rumah sebagai tanaman hias. Sirih diduga mengandung zat yang bersifat larvasida terhadap larva *Ae. aegypti* L. (Aulung, 2010).

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

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae (suku sirih-sirihan)
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper betle</i> L (Plantamor, 2008).

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

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 sekaiar 5 cm sampai 18 cm, lebar sekitar 2 cm sampai 20 cm. Warna daun hijau tua, hijau muda agak kekuning-kuningan.



Gambar 2.1 Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)
(Sumber : www.pustakasekolah.com)

2.1.3 Manfaat Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sirih hijau (*Piper betle* L.) termasuk tanaman obat yang sering digunakan, ini dikarenakan khasiatnya untuk menghentikan pendarahan, sariawan, gatal-gatal dan lain-lain. Ekstrak daun sirih digunakan sebagai obat kumur dan batuk. Ekstrak daun sirih juga berkhasiat sebagai anti jamur pada kulit. Khasiat obat ini dikarenakan senyawa aktif yang dikandungnya terutama adalah minyak atsiri (Moeljatno, 2003).

Secara tradisional sirih dipakai sebagai obat sariawan, sakit tenggorokan, obat batuk, obat cuci mata, obat keputihan, pendarahan pada hidung / mimisan, mempercepat penyembuhan luka, menghilangkan bau mulut dan mengobati sakit gigi (Elya, 2002).

2.1.4 Senyawa – Senyawa yang Terkandung dalam Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sebagai daun tanaman yang berkhasiat obat batuk, anti septika dan obat kumur, kandungan zat-zatnya yaitu :

- a. minyak atsiri sampai 4,2%, yang mengandung pula fenol yang khas yang disebut betelfenol atau aseptosol (isomir dengan eugenol),
- b. khavikol dan suatu seskuioterpen,
- c. diastase 0,8% sampai 1,8%
- d. zat penyamak, gula dan pati

Sebagai bahan-bahan obat di atas, pemakaian hendaknya dengan dosis 6% sampai 15%, sebagai infusa (Kartasapoetra, 1996).

Menurut Made (2011) pada analisis GC-MS menunjukkan bahwa dalam minyak atsiri mengandung 15 puncak namun setelah dianalisis ternyata mengandung 9 komponen senyawa, antara lain 4-metil (1-metiletil) – 3 – sikloheksen -1- ol, 1 – metoksi – 4 (1-propenil) benzene, 4 – (2 – propenil) fenol / kavikol, 4 – alilfenilasetat, Eugenol, Karyofilen, 3 – alil – 6 – metoksifenilasetat, 4-alil-1,2-diasetoksibenzena dan dekahidro-4a-metil-1-metilen-7 (1-metiletetil) naftalena.

Berdasarkan intensitas puncak kandungan minyak atsiri daun sirih didominasi oleh 4 komponen senyawa yaitu 4-allyl phenil acetate, 2 metoksi-4-(2 propenil) fenol/eugenol, 3-allyl-6-methoksi phenil asetat, 4-(2-prophenyl)-phenol / kavikol. Keempat senyawa ini diduga berperan aktif/sangat besar dalam aktivitasnya sebagai senyawa yang membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. karena merupakan senyawa fenol dan asetat (Made, 2011).

Berdasarkan analisis fitokimia ekstrak metanol daun sirih, senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut adalah alkaloid, terpenoid, antraquinon, flavonoid, tannin, saponin dan steroid. Komponen fitokimia seperti alkaloid umumnya menyebabkan aktivitas plamodial pada kebanyakan tumbuhan. Terpen atau terpenoid teridentifikasi sebagai antiprotozoa aktif dan agent antimalaria pada banyak hasil penelitian farmakologi. Flavonoid merupakan salah satu komponen yang terdapat pada struktur fenol *Piper betle* L. Flavonoid menunjukkan aktivitas antiparasit yang

signifikan yang melawan parasit strain malaria, trypanosoma dan leishmania. Derivat dari 9,10-antraquinon termasuk rufigallol yang termasuk komponen penting dalam obat antimalaria (Al-Adhroey, *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil skrinning fitokimia yang telah dilakukan oleh Inayati (2010) pada daun sirih (*Piper betle* Linn) diperoleh beberapa golongan senyawa kimia yang hasilnya dapat dilihat dibawah ini :

Tabel 2.1 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Sirih

Golongan Senyawa	Hasil Penapisan	
	Serbuk	Ekstrak Kental
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+
Tanin	+	+
Kuinon	-	-
Minyak Atsiri	+	+
Kumarin	+	+

Keterangan: (+), menunjukkan ada kandungan senyawa kimia, (-) menunjukkan tidak ada kandungan senyawa kimia

2.1.5 Sifat Senyawa Kimia dalam Ekstrak Daun Sirih Hijau

a. Alkaloid

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995). Alkaloid juga menghambat sintesis protein dengan cara menghambat esterase, dan DNA, RNA polimerase, menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA (Gholib, 2009 dalam Darwis, 2012).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat menyebabkan denaturasi protein yang merupakan substansi penting dalam struktur bakteri. Apabila komponen sel seperti protein terdenaturasi maka proses metabolisme bakteri akan terganggu dan terjadi lisis yang akan menyebabkan kematian bakteri tersebut (Jawetz, 2005).

Flavonoid maupun saponin mempunyai sifat polar maupun non polar dengan bagian yang hampir sama (Aisyah, 2012)

c. Terpenoid

Terpenoid bersifat polar dan non polar hanya saja mempunyai bagian non polar jauh lebih banyak daripada polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Aisyah, 2012). Senyawa terpenoid sangat berpotensi sebagai penghambat makan pada sejumlah serangga (Yusnarti, 1996 dalam Istimuyasaroh, 2009).

d. Tanin

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, karena efek toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringen tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama, 2001). Pada penelitian Aisyah 2012, tanin diketahui bersifat semipolar sehingga kurang terekstrak oleh pelarut non polar (n-heksana) maupun pelarut polar (air).

e. Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah salah satu hasil proses metabolisme dalam tanaman yang terbentuk dari reaksi antara berbagai persenyawaan kimia dengan air. Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Aminarsi *et al*, 2006). Minyak atsiri dari daun sirih mengandung 30% fenol dan beberapa derivatnya. Minyak atsiri berperan sebagai anti bakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004). Dalam kadar yang rendah maka akan terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Parwata, 2008).

Sebagian besar fenol dapat menghambat sintesis protein dengan cara menghilangkan struktur tersier dan sekunder ikatan protein pada membran sel menjadi hancur dan kemungkinan fenol untuk menembus ke dalam inti sel sehingga dapat menyebabkan jamur tidak berkembang ataupun terhambatnya pertumbuhan (Darwis, 2012).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun juga, dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Sampurno, 2000).

2.2.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kualitas Simplisia

Kualitas simplisia dipengaruhi oleh faktor bahan baku dan proses pembuatannya.

a. Bahan baku simplisia

Berdasarkan bahan bakunya, simplisia dapat diperoleh dari tanaman liar dan atau dari tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal usul garis keturunan) tanaman yang dipantau. Sementara jika diambil dari tanaman liar maka banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Inayati, 2010).

b. Proses pembuatan simplisia

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan. Adapun tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, pengubahan bentuk, pengepakan dan penyimpanan (Inayati, 2010).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu komponen solute (cair) dari campurannya menggunakan sejumlah pelarut sebagai tenaga pemisah. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada simplisia. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel melalui mekanisme pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik diluar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (Dewanti, 2011).

Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Untuk memisahkan zat terlarut yang diinginkan atau menghilangkan komponen zat terlarut yang tidak diinginkan dari fasa padat, maka fasa padat dikontakkan dengan fasa cair. Pada kontak dua fasa tersebut, zat terlarut terdifusi dari fasa padat ke fasa cair sehingga terjadi pemisahan dari komponen padat. Ekstraksi padat cair dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi, dan tekanan tinggi (Surya, 2009). Jenis ekstraksi dan cairan mana yang sebaiknya digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Dewanti, 2011).

Berdasarkan sifatnya, ekstrak dikelompokkan menjadi :

- a. Ekstrak kering, memiliki konsentrasi kering dan mudah digosongkan yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak kurang dari 5%.
- b. Ekstrak kental, sediaan ini kuat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kandungan airnya berjumlah sampai 30%.
- c. Ekstrak cair, diartikan sebagai ekstrak cair yang dibuat sedemikian rupa hingga satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian (kadang-kadang satu bagian) ekstrak cair (Voight, 1994).

2.3.1 Jenis Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi terbagi atas 3 macam yaitu ekstraksi dengan Pelarut, destilasi uap dan cara lain. Terdapat dua macam metode ekstraksi dengan bantuan pelarut yaitu metode dengan cara dingin dan metode dengan cara panas. Metode dengan cara dingin terbagi menjadi dua macam yaitu maserasi dan perkolasi, sedangkan dengan cara panas terdapat 5 macam yaitu refluks, soxhletasi, digesti, infus dan dekok.

Ekstraksi cara lainnya terbagi atas beberapa metode, yaitu:

a. Ekstraksi Dengan Bantuan Gelombang Mikro

Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dengan frekuensi 2.450 MHz dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik (Armstrong,1999). Energi ini dapat menyebabkan pergerakan molekul dengan migrasi ion dan rotasi dari dua kutub, tetapi tidak mengubah struktur molekulnya. Pemanasan akibat gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur, sehingga analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi ke pelarut (Surya, 2009).

b. Metode ekstraksi tekanan tinggi

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

c. Metode Sonikasi (Ekstraksi Ultrasonik)

Metode sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat menghancurkan sel daun sehingga mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut (Dean,1998 dalam Surya, 2009).

Pada penelitian Nasrul (2014) yang menggunakan 3 macam metode ekstraksi yakni metode maserasi, ekstraksi metode *microwave assisted extraction*, ekstraksi metode sonikasi. Hasil dari beberapa penelitian di atas adalah metode sonikasi merupakan metode ekstraksi terbaik dengan rendemen tertinggi. Rendemen yang cukup tinggi ini diperoleh karena pada metode sonikasi, terjadi kavitasi saat diberi perlakuan gelombang ultrasonik untuk memecah dinding sel bahan. Kavitasi adalah proses pembentukan gelembung-gelembung mikro (*microbubbles*) karena meningkatnya tekanan pada saat ekstraksi sebagai akibat dari adanya gelombang ultrasonik. Gelembung-gelembung ini tidak stabil sehingga mudah pecah ketika gelembung tersebut mencapai volume yang tidak cukup lagi menyerap energi. Pecahnya gelembung-gelembung ini melibatkan energi yang besar dan menghasilkan efek panas yang membantu kontak antara pelarut dan bahan dalam ekstraksi sehingga hasil ekstraksi lebih maksimal. Efek mekanik dari metode sonikasi dapat meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sel bahan serta meningkatkan transfer massa sehingga waktu yang dibutuhkan untuk pemecahan sel hanya beberapa menit (Saksony, 2011 dalam Nasrul, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Delmifiana (2013) dapat disimpulkan bahwa ukuran kristal nanopartikel magnetik yang telah dihasilkan berada dalam orde nanometer (nm). Dengan adanya penambahan metode sonikasi, diperoleh nanopartikel magnetik dengan ukuran kristal yang lebih kecil dibandingkan disintesis tanpa metode sonikasi. Ukuran kristal paling kecil yaitu pada sonikasi selama 3 jam sebesar 41,6 nm. Selain itu, morfologi permukaan nanopartikel magnetik yang dihasilkan lebih homogen dan terdapat rongga pemisah antara partikel. Hal ini membuktikan bahwa gelombang kejut pada metode sonikasi dapat memisahkan penggumpalan partikel (*agglomerasi*).

Proses degradasi akan lebih efektif dengan memberikan treatment awal seperti sonikasi, sehingga penguraian selulosa akan menjadi lebih mudah. Dengan melakukan *ultrasonic pretreatment* pada berbagai temperatur dan waktu sonikasi,

akan menyebabkan terbongkarnya struktur kristal dan akan memproduksi banyak rantai bebas (Pinjari, 2010 dalam Adina, 2012).

Ultrasonik adalah salah satu bentuk dari energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu antara 20 kHz – 500 MHz (Thompson dalam Brian, 2011). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi, biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia (Thompson, 1999 dalam Brian, 2001).

2.4 Pelarut dalam Ekstraksi

Ada 2 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 terpisah dengan cepat 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 1981 dalam Amiarsi, 2006).

2.4.1 Macam-Macam Pelarut

a. n-Heksana

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . 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. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Kastianti dan Amalia, 2008 dalam Munawaroh, 2010). Pelarut n-heksana yang bersifat non-polar memiliki kemampuan untuk mengikat gugus nonpolar (OH) yang ada pada zat warna flavonoid dan tanin (Suarsa *et al*, 2011).

Tabel 2.2 Sifat Fisika dan Kimia n-heksana

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	-95°C
Titik didih	69°C (pada 1 atm)
Densitas	0,6603 gr/ml pada 20°C

(Sumber: Kastianti dan Amalia, 2008 dalam Munawaroh, 2010)

b. Etil asetat

Etil asetat merupakan cairan tidak berwarna, transparan, bau harum, segar dan sedikit seperti aseton dan memiliki rasa aneh, seperti aseton dan membakar. Dapat bercampur dengan eter, alkohol dan minyak lemak dan minyak atsiri (Baraja, 2008). Menurut Putri (2013) etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak hidroskopis, dan memiliki toksisitas yang rendah. Etil asetat sebagai pelarut semi polar tidak mampu menarik senyawa yang terlalu polar maupun non polar.

c. Metanol

Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder yaitu, alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida (Harborne, 1987 dalam Prabowo, 2014). Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985 dalam astarina, 2013). Menurut penelitian Suryanto dan Wehantouw (2009) menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam daun *Artocarpus altilis* F. dibandingkan dengan etanol. Hal ini disebabkan karena metanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) sehingga dapat menarik analit-analit yang bersifat polar dan nonpolar. Hasil uji fitokimia pendahuluan terhadap ekstrak kental metanol kulit akar Awar-awar

diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid (Sukadana, 2004 dalam Sukadana, 2010).

2.5 Nyamuk *Aedes aegypti* L.

2.5.1 Klasifikasi *Aedes aegypti* L.

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Protostomia
Superfilum	: Ecdysozoa
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Hexapoda
Kelas	: Insecta
Subkelas	: Pterygota
Infrakelas	: Neoptera
Superordo	: Holometabola
Ordo	: Diptera
Subordo	: Nematocera
Infraordo	: Culicomorpha
Famili	: Culicidae
Subfamili	: Culicinae
Genus	: <i>Aedes</i>
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i> L. (ITIS, 2014).

2.5.2 Morfologi Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar hitam. Panjang badan nyamuk ini sekitar 3-4 mm dengan bintik hitam dan putih pada badan dan kepalanya, terdapat ring putih pada bagian kakinya. Di bagian dorsal dari toraks terdapat bentuk bercak yang khas berupa dua garis sejajar di bagian tengah dan dua garis lengkung di tepinya. Bentuk abdomen nyamuk betinanya lancip pada ujungnya

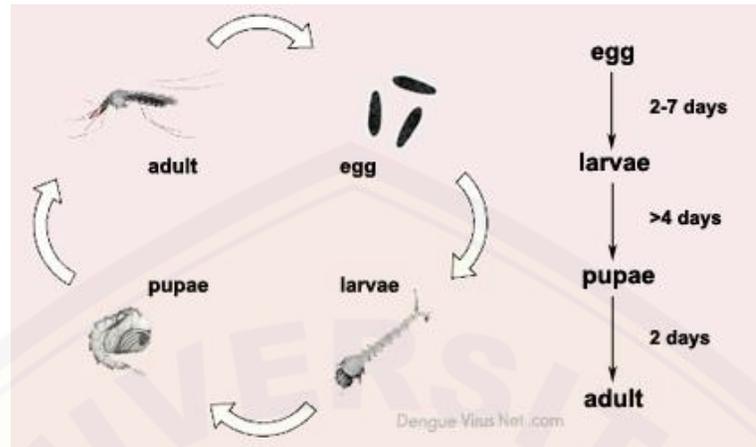
dan memiliki cerci yang lebih panjang dari cerci pada nyamuk-nyamuk lainnya. Ukuran tubuh nyamuk betinanya lebih besar dibandingkan nyamuk jantan (Gillot, 2005). Nyamuk ini berkembang biak di air yang jernih dan hanya mampu terbang sejauh 100-200 meter. Kebanyakan nyamuk *Aedes aegypti* L. hidup di dalam rumah, di kloset, dan di tempat-tempat yang gelap. Di luar rumah, nyamuk tersebut hidup di tempat yang dingin dan terlindung matahari (Suharmiati dan Lestari Handayani, 2007 dalam Lilipaly, 2014).

2.5.3 Penyebaran Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Menurut Depkes RI (2005), nyamuk *Aedes aegypti* L. tersebar luas di daerah tropis dan sub tropis. Di Indonesia, nyamuk ini tersebar luas baik di rumah-rumah maupun tempat-tempat umum. Nyamuk ini dapat hidup dan berkembang biak sampai ketinggian daerah ± 1.000 m dari permukaan air laut. Di atas ketinggian 1.000 m nyamuk ini tidak dapat berkembang biak, karena pada ketinggian tersebut suhu udara terlalu rendah, sehingga tidak memungkinkan bagi kehidupan nyamuk tersebut (Depkes RI, 2005).

2.5.4 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* L.

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).



Gambar 2.2 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L.

(Sumber : <http://Dengue Virus Net.com/Life Cycle of Dengue Mosquito Aedes aegypti.htm>)

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

a. Telur

Karakteristik telur *Aedes aegypti* L. adalah berbentuk bulat pancung yang mula-mula berwarna putih kemudian berubah menjadi hitam, berukuran 0,5-0,8 mm. Telur tersebut diletakkan secara terpisah di permukaan air untuk memudahkannya menyebar dan berkembang menjadi larva di dalam media air. Media air yang dipilih untuk tempat peneluran itu adalah air bersih yang stagnan (tidak mengalir) dan tidak berisi spesies lain sebelumnya (Mortimer, 1998 dalam Wayan, 2008).



Gambar 2.3 Telur Nyamuk Demam Berdarah *Aedes aegypti* (Linnaeus). Perbesaran 100 kali di bawah mikroskop

(Sumber : <http://mosquito.ifas.ufl.edu/Mosquito Management.htm>)

Nyamuk betina biasanya meletakkan telurnya pada wadah artificial atau wadah alami yang terdapat di atas tanah. Wadah (*containers*) meliputi area bekas penebangan pohon, ruas- ruas bambu, area pantai dimana terdapat banyak tempurung kelapa. Bahkan pada area dengan genangan air sedikitpun dapat menjadi habitat nyamuk (California Departement of Public Health, 2014).

a. Larva

Larva merupakan bentuk serangga muda, perpindahan antara telur dan pupa. Secara umum memiliki ciri-ciri tidak memiliki tunas, sayap dan tanpa mata majemuk dengan bentuk tubuh berbeda dengan serangga dewasa (Jumar, 2000). Tubuhnya berbentuk silinder dan tubuhnya terdiri dari tiga bagian, yaitu kepala (*cephal*), dada (*thorax*) dan perut (*abdomen*) (Nurdian, 2003).

Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. bernafas menggunakan siphon yang terdapat pada bagian posterior yang menahan tubuh berada dibawah permukaan air saat larva dalam posisi vertikal (Nelson 1986). Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. juga memiliki sepasang batang rambut pada saluran pernafasan yang relatif pendek dan gembung serta memiliki sklerotisasi ruas dubur yang berkembang biak tidak sempurna (Borrer *et al.*, 1992). Larva memakan partikel organik yang terdapat pada air, seperti alga dan organisme mikroskopis lainnya. Pada fase larva cenderung untuk berada di permukaan air, walaupun larva akan berenang ke dasar wadah apabila terganggu atau saat makan (Nelson 1984).

Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang terdiri atas empat instar semuanya hidup di dalam air. Keempat instar tersebut diselesaikan dalam waktu 4 hari–2 minggu tergantung pada ketersediaan makanan (Supartha, 2008). Larva instar keempat memiliki ukuran yang paling besar yakni sekitar 8 milimeter. Perkembangan Jantan lebih cepat daripada betina, sehingga pembentukan pupa pada jantan terjadi terlebih dahulu. Jika temperatur air dingin, *Aedes aegypti* L. dapat tetap berupa larva sebulan lebih lama sampai pasokan air mencukupi (Foster and Walker 2002).



Gambar 2.4 Larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
(Sumber : Dept. Entomologi ICPMR, 2012 dalam Jamaludin, 2013)

b. Pupa

Pupa adalah fase inaktif yang tidak membutuhkan makan, namun tetap membutuhkan oksigen untuk bernafas (Wayan, 2008). Pupa berbentuk bengkok, dengan bagian kepala-dada (*chepalothorax*) lebih besar apabila dibandingkan dengan bagian perutnya, sehingga tampak seperti tanda baca koma (Soegijanto, 2004).



Gambar 2.5 Pupa Nyamuk Demam Berdarah *Aedes aegypti* L. Perbesaran 100 kali di bawah mikroskop.

(Sumber : [http://entomology&nematologi.FDAC/DPI/EDIS/yellow fever mosquito Aedes aegypti \(Linnaeus\).htm](http://entomology&nematologi.FDAC/DPI/EDIS/yellow%20fever%20mosquito%20Aedes%20aegypti%20(Linnaeus).htm)).

Pada bagian punggung (*dorsal*) dada terdapat alat bernafas seperti terompet. Pada ruas perut ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Pupa adalah bentuk tidak makan. Posisi pupa sering kali sejajar dengan bidang permukaan air (Soegijanto, 2004).

c. Nyamuk Dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* L. Dewasa memiliki ukuran sedang (panjang 3 – 4 mm) dengan tubuh berwarna hitam kecoklatan. Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Di bagian punggung (*dorsal*) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri species ini. Sisik pada tubuh nyamuk pada umumnya mudah rontok atau terlepas sehingga menyulitkan identifikasi pada nyamuk-nyamuk tua. Ukuran dan warna nyamuk jenis ini kerap berbeda antar populasi, tergantung dari kondisi lingkungan dan nutrisi yang di peroleh nyamuk selama perkembangan (Nugroho, 2011).



Gambar 2.6 Nyamuk Dewasa *Aedes aegypti* L.

(Sumber: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/aedes_aegypti.htm#syn)

Imago yang lebih awal keluar adalah jantan yang sudah siap melakukan kopulasi bila betinanya muncul belakangan. Imago *Aedes aegypti* biasanya melakukan kopulasi di dekat inang imago betina dengan harapan memudahkan mendapatkan cairan darah (Hawley, 1988 dalam Lutz, 2000). 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 (Lutz, 2000).

Kebanyakan nyamuk betina menghisap darah manusia atau hewan lain seperti kuda, sapi, babi, dan burung dalam jumlah yang cukup sebelum perkembangan telurnya. Namun ada jenis nyamuk yang bersifat spesifik dan hanya menggigit manusia atau mamalia. Nyamuk jantan biasanya hidup dengan memakan cairan tumbuhan (Sembel, 2009). Nyamuk mampu menjadi vektor apabila memenuhi beberapa syarat, antara lain: umur nyamuk, kepadatan, ada kontak dengan manusia, rentan (tahan) terhadap parasit dan terdapat sumber penularan (Barrera, 2006).

2.5.5 Habitat *Aedes aegypti* L.

Berdasarkan tempat bertelur, habitat nyamuk dapat dibagi menjadi wadah alami (*Container habitat*) dan genangan air tanah (*ground water habitats*). *Container habitat* terdiri dari wadah alami dan wadah artificial (Rattanaarithikul dan Harrison, 2005 dalam Susanti, 2014). Genangan air tanah adalah genangan air yang terdapat tanah di dasarnya. Spesies yang memiliki habitat genangan air tanah adalah *Anopheles sp*, *Culex sp* (Komariah, 2010).

Wadah alami banyak terdapat di area hutan atau area perkebunan. Namun wadah alami juga banyak terdapat di tempat lain, misalnya area bekas penebangan pohon, ruas-ruas bambu, area pantai dimana terdapat banyak tempurung kelapa. Spesies yang memiliki habitat wadah alami adalah *Aedes sp*, *Anopheles sp*, *Culex sp* (Rattanaarithikul dan Harrison, 2005).

Jenis-jenis tempat perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* L. dapat dikelompokkan menjadi sebagai berikut :

- a. Tempat penampungan air untuk keperluan sehari-hari, seperti drum, tangki, reservoir, tempayan, bak mandi / WC, ember dll.

- b. Tempat penampungan air bukan untuk keperluan sehari-hari, seperti tempat minum burung, vas bunga, perangkap semut dan barang-barang bekas (ban, kaleng, botol plastik dll)
- c. Tempat penampungan air alamiah, seperti lubang pohon, lubang pintu, pelepah daun, tempurung kelapa, pelepah pisang, poongan bambu (Suryanto, 2011).

2.5.6 Perbedaan Nyamuk *Aedes* sp. *Culex* sp. *Anopheles* sp.

Perbedaan nyamuk *Aedes* sp. *Culex* sp. dan *Anopheles* sp. dilihat dari siklus hidup ketiga macam nyamuk tersebut.

a. Telur

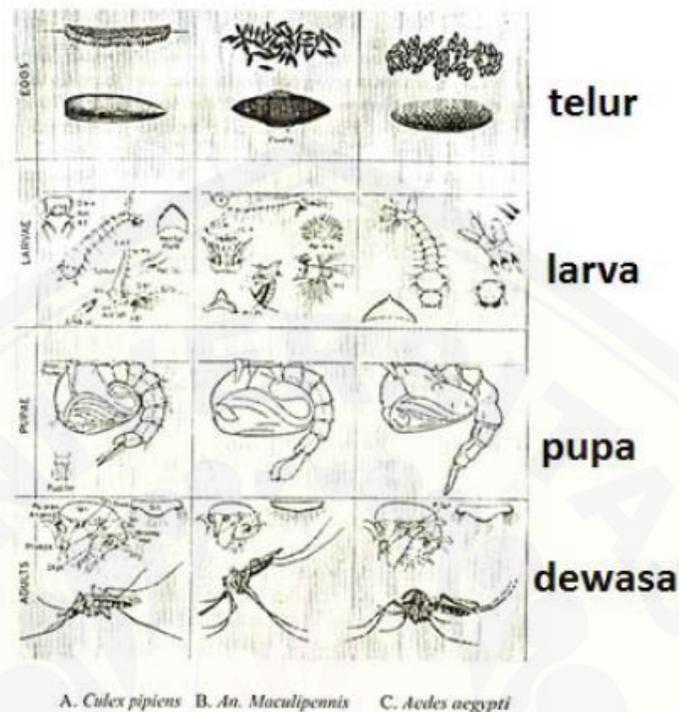
Telur biasanya diletakkan di atas permukaan air satu per satu atau berkelompok. Telur-telur dari jenis *Culex* sp diletakkan berkelompok (raft). Dalam satu kelompok biasa terdapat puluhan atau ratusan ribu nyamuk. Nyamuk *Anopheles* sp dan *Aedes* sp meletakkan telur di atas permukaan air satu persatu. Telur dapat bertahan hidup dalam waktu yang cukup lama dalam bentuk dorman. Namun, bila air cukup tersedia, telur telur itu biasanya menetas 2-3 hari sesudah diletakkan (Sembel, 2009).

b. Larva

Menurut Brown (1979) Larva nyamuk *Anopheles* yang istirahat bergantung horizontal terhadap permukaan air, sedangkan larva *Culex* bergantung membentuk sudut. Nyamuk dalam genus *Culex* mengalami metamorfosis secara sempurna dimana dalam siklus hidupnya dari larva sampai pupa berkembang di dalam air. Pada genus *Anopheles* telur harus selalu kontak dengan air supaya dapat menetas, biasanya telur menetas dalam waktu 2 - 6 hari.

c. Pupa

Sesudah melewati pergantian kulit keempat, maka terjadi pupasi. Pupa berbentuk agak pendek, tidak makan, tetapi tetap aktif bergerak dalam air terutama bila diganggu. Mereka berenang naik turun dari bagian dasar ke permukaan air. Bila perkembangan pupa sudah sempurna, yaitu sesudah dua atau tiga hari, maka kulit pupa akan pecah dan nyamuk dewasa keluar serta terbang (Sembel, 2009).



Gambar 2.7 Perbedaan Siklus Hidup Nyamuk *Aedes sp*, *Culex sp*, *Anopheles sp*
(Sumber : Sembel,2009)

d. Dewasa

Nyamuk dewasa yang baru keluar dari pupa berhenti sejenak di atas permukaan air untuk mengeringkan tubuhnya terutama sayap – sayapnya dan sesudah mampu mengembangkan sayapnya, nyamuk dewasa terbang mencari makan. Dalam keadaan istirahat, bentuk dewasa *Culex sp* dan *Aedes sp* hinggap dalam keadaan sejajar dengan permukaan, sedangkan *Anopheles sp* hinggap membentuk sudut dengan permukaan (Sembel, 2009).

Selain itu, tingkah laku dan aktivitas nyamuk pada saat terbang dan menghisap darah berbeda-beda menurut jenisnya. Ada nyamuk yang aktif pada waktu siang hari seperti *Aedes sp* dan aktif pada waktu malam hari seperti *Anopheles sp* dan *Culex sp*. (Sembel, 2009).

2.5.7 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Kehidupan Vektor

Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kehidupan vektor adalah faktor abiotik dan biotik. Menurut Barrera *et al.* (2006) faktor abiotik seperti curah hujan, temperatur, dan evaporasi dapat mempengaruhi kegagalan telur, larva dan pupa nyamuk menjadi imago. Demikian juga faktor biotik seperti predator, parasit, kompetitor dan makanan yang berinteraksi dalam kontener 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*. Selain itu bentuk, ukuran dan letak kontener (ada atau tidaknya penangung dari kanopi pohon atau terbuka terkena sinar matahari langsung) juga mempengaruhi kualitas hidup nyamuk (Wayan, 2008).

Suhu juga berpengaruh terhadap aktifitas makan, dan laju perkembangan telur menjadi larva, larva menjadi pupa dan pupa menjadi imago (Supartha, 2008). Perubahan iklim yang ditandai dengan peningkatan suhu rata-rata dapat mempengaruhi perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* dengan memperpendek waktu yang diperlukan untuk berkembang dari fase telur menjadi nyamuk dewasa (Manguang, 2011). Menurut Murdihusodo (2006) dalam Ridha (2013), perkembangan telur nyamuk tampak telah mengalami embrionisasi lengkap dalam waktu 72 jam dalam temperatur udara 25 °C sampai 30 °C dan dijelaskan bahwa rata-rata suhu optimum untuk pertumbuhan nyamuk adalah 25-27 °C dan pertumbuhan nyamuk akan berhenti sama sekali bila suhu kurang dari 10 °C atau lebih dari 40 °C. Menurut Ramasamy *et al.* (2011) dalam wadah plastik 150 ml dapat menampung 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang berisi 100 ml air dengan suhu 28±2°C sampai berkembang menjadi dewasa.

Kelembaban udara juga merupakan salah satu kondisi lingkungan yang dapat mempengaruhi perkembangan jentik nyamuk *Ae. aegypti* (Depkes RI, 2005 dalam Ridha *et al.* 2013). Menurut Sugito (2010) dalam Ridha *et al.* (2013) kelembaban yang sesuai dengan perkembangan nyamuk 70%-89% sedangkan kelembaban udara

berkisar antara 81,5 - 89,5% merupakan kelembaban yang optimal untuk proses embrionisasi dan ketahanan hidup embrio nyamuk, pada kelembaban kurang dari 60% umur nyamuk akan menjadi pendek dan tidak kemungkinan tidak cukup waktu untuk perkembangan virus di dalam tubuh nyamuk.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris karena pada penelitian terdapat perlakuan dan tempat atau lokasi penelitian yang bertempat di laboratorium. Berdasarkan hasil penelitian, penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif, di karenakan hasil penelitian yang didapat berupa angka. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena kondisi lingkungan yang dibuat homogen atau sama sehingga yang berpengaruh dalam penelitian hanya perlakuan yang diberikan yakni pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan berbagai jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat penelitian

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

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan sejak bulan Juli – September 2015.

3.3 Identifikasi Variabel

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

3.3.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau penyebab timbulnya variabel terikat. Dalam penelitian ini, variabel bebas yang digunakan adalah penggunaan berbagai macam jenis pelarut (N-heksan, Etil asetat dan Metanol) dalam serial konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) selama waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

3.3.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada stadium larva instar III akhir hingga instar IV awal dalam waktu dedah 24 jam dan 48 jam.

3.3.3 Variabel Kontrol

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

3.4 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan adalah pipet tetes, *blender*, *beaker glass*, *rotary evaporator*, labu erlenmeyer berpenghisap, corong *buchner*, *vacum evaporator*, kertas *aluminium foil*, volumetric atau timbangan analitik, lemari es, pisau, oven, lampu, bak plastik, *ultrasonic clearning*, thermometer, hygrometer, pengaduk, kain kasa, kaca benda, kaca penutup, mikroskop, kamera, kertas saring, kertas label.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.), n-heksan (PA), etil asetat (PA), metanol (PA), dan telur nyamuk (*Aedes aegypti* L.) yang

diperoleh dari Laboratorium Entomologi ITD UNAIR, larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.), *aquadest*, *tween* 80, dan air.

3.5 Definisi Operasional

- a. Toksisitas adalah daya bunuh suatu zat terhadap organisme hidup. Toksisitas dalam penelitian ini adalah berbagai macam pelarut (n-heksan, etil asetat dan metanol) yang terdapat pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 50% dalam waktu 24 jam dan 48 jam.
- b. *Lethal concentration* 50% (LC₅₀) adalah konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat mematikan larva nyamuk *Aedes Aegypti* L. sebesar 50% dalam jangka waktu 24 jam dan 48 jam.
- c. *Lethal Time* 50% (LT₅₀) adalah lama pengujian yang diperlukan agar populasi larva uji mengalami kematian sebesar 50% pada konsentrasi tertentu.
- d. Mortalitas adalah kematian individu selama kurun waktu tertentu dalam suatu populasi yang dihitung dalam persentase. Pada penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. (larva instar III akhir sampai instar IV awal) yang mati dengan masa dedah 24 jam dan 48 jam.
- e. Kematian larva *Aedes aegypti* L. dinilai dengan melihat aktivitas gerak larva yaitu dengan menyentuh larva dengan ujung pipet tetes dengan lembut. Apabila tidak ada reaksi atau gerakan berarti larva telah mati.
- f. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan supernatan yang dibuat dari daun sirih hijau dalam beberapa serial konsentrasi. Ekstraksi adalah suatu metode umum yang digunakan untuk mengambil produk dari bahan alami seperti tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme.
- g. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah serangga pra-dewasa 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 dalam air dan mikroorganisme lainya dan mengalami 4 kali pergantian kulit.

- h. Perbedaan mortalitas diukur dari hasil LC₅₀ dan LC₉₀ yang didapatkan dari hasil analisis probit pada masing-masing perlakuan.

3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel

- a. 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 dilakukan identifikasi sifon (alat pernafasan panjang langsing berwarna hitam).
- b. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini 1730 larva nyamuk *Aedes aegypti* L. untuk setiap perlakuan uji pendahuluan tanpa pengulangan menggunakan 10 ekor larva dan pengujian akhir dilakukan 3 kali pengulangan dengan 20 ekor larva pada setiap wadahnya.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Langkah awal dalam proses pembuatan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah persiapan pemilihan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Patrang Kabupaten Jember, daun yang digunakan merupakan daun yang terseleksi tidak rusak, cacat atau sobek dan telah mencapai kedewasaan karena daun yang telah mencapai kedewasaan mempunyai kandungan lebih banyak dari pada daun yang masih muda (Ambarwati, 2014).

Daun sirih hijau dikering anginkan selama 7 hari sampai mencapai berat konstan, di oven selama 1 hari (24 jam) dengan suhu 45 °C tujuannya untuk memastikan kadar air sudah hilang, kemudian diblender menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk. Menyiapkan sebuah tabung erlenmeyer untuk pelarut ekstraksi. Selanjutnya adalah proses maserasi bertingkat dengan memasukkan 150

gram serbuk daun sirih hijau ke dalam tabung Erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan pelarut n-heksan 450 ml, mengaduk campuran hingga homogen menggunakan pengaduk. Kemudian melakukan sonikasi selama 3 jam dengan suhu ruangan.

Ekstrak yang dihasilkan dari proses sonikasi disaring menggunakan corong *buchner* yang dilapisi dengan kertas saring, penyaringan dibantu dengan *vacum evaporator* agar ekstrak yang dihasilkan semakin banyak dan tidak terjadi penguapan yang berlebih, dikarenakan sifat n-heksan yang mudah menguap. Penguapan pelarut dilakukan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45 °C – 55 °C dengan tekanan rendah kurang lebih 15 mmHg (antara 1-15 mmHg) hingga berwarna hijau pekat dan berupa pasta.

Ampas yang dihasilkan dari hasil penyaringan larutan campuran n-heksan kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan, setelah kering ampas daun sirih hijau tersebut dituang ke dalam tabung erlenmeyer dengan penambahan 450 ml etil asetat. Campuran tersebut kemudian di sonikasi selama 3 jam. Filtrat yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan corong *buchner* dengan bantuan *vacum evaporator*, karena larutan yang bersifat toksik sehingga tidak bisa melakukan penyaringan dengan cara manual. Ampas yang dihasilkan dikering anginkan untuk selanjutnya digunakan dalam pembuatan ekstrak selanjutnya. Filtrat yang dihasilkan diuapkan dengan cara dituangkan ke dalam mortal yang diletakkan ke dalam lemari asam selama 3 hari sampai ekstrak tersebut mengental dan berupa pasta.

Selanjutnya pembuatan ekstrak daun sirih hijau menggunakan pelarut metanol (PA) dengan cara memasukkan ampas daun sirih hijau yang telah kering ke dalam tabung erlenmeyer dengan penambahan 450 ml metanol. Campuran tersebut kemudian diaduk menggunakan pengaduk sampai homogen yang dilanjutkan dengan proses sonikasi selama 3 jam. Filtrat yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan corong *bucher* yang dilapisi dengan kertas saring. Ekstrak hasil penyaringan kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* pada suhu 45 °C – 55 °C dengan tekanan rendah kurang lebih 15 mmHg (antara 1-15 mmHg) hingga berwarna hijau pekat dan berupa pasta.

Sebelum diisi dengan ekstrak, masing-masing toples gelas ditimbang terlebih dahulu. Selisih antara kedua hasil penimbangan tersebut merupakan berat ekstrak. Ekstrak daun sirih hijau tersebut siap digunakan untuk uji hayati.

3.7.2 Pembuatan Serial Konsentrasi Larutan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

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

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

Dapat juga dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus :

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

Keterangan :

- V1 = Volume mula-mula
- N1 = Konsentrasi mula-mula
- V2 = Volume kedua
- N2 = Konsentrasi kedua

3.7.3 Persiapan Larva Uji

Tahap-tahap yang perlu dilakukan untuk persiapan larva uji adalah sebagai berikut :

a. Identifikasi Telur

Identifikasi telur nyamuk yang didapat dari Laboratorium Entomologi ITD (*Institute of Tropical Disease*) UNAIR Surabaya dilakukan dengan cara pengamatan mikroskopis, yang bertujuan untuk melihat morfologi telur meliputi warna, bentuk, dan susunan telur pada media penetasan.

b. Penetasan Telur

- 1) Menyiapkan bak plastik yang berisi air sebanyak 1,5 liter sebagai media penetasan telur yang ditutup menggunakan kain kasa.

- 2) Penetasan telur dilakukan selama 24 jam sampai 48 jam dengan meletakkan telur nyamuk *Aedes aegypti* L. ke dalam bak plastik yang sudah diisi dengan air dengan volume 1,5 liter.
 - 3) Memindahkan larva instar I yang baru menetas ke dalam bak plastik yang sudah berisi akuades sebanyak 3 liter.
- c. Identifikasi Larva *Aedes aegypti* L.
- Identifikasi dilakukan secara mikroskopis meliputi warna, bentuk, rambut lateral dan siphon.
- d. Pemeliharaan Larva *Aedes aegypti* L.
- 1) Melakukan pengamatan setiap hari terhadap proses pergantian kulit untuk menentukan stadium larvanya.
 - 2) Pemeliharaan larva dilakukan hingga instar III akhir sampai instar IV awal. Pemberian nutrisi atau makanan dalam tahap pemeliharaan larva berupa pelet ikan 3-4 butir pelet dengan cara ditumbuk halus, kemudian diletakkan pada pojok wadah setiap harinya. Selain pemberian makanan, hal penting yang harus diperhatikan adalah kondisi air dalam bak yang harus selalu terkontrol agar air tidak kotor atau keruh. Suhu dan kelembaban juga harus dijaga agar tetap konstan.
 - 3) Larva dipelihara hingga instar III akhir sampai instar IV awal, kemudian siap digunakan untuk uji penelitian. Larva yang digunakan untuk uji penelitian dipilih secara homogen pada stadium instar III akhir sampai instar IV awal.

3.7.4 Tahap Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan bertujuan untuk memperoleh kisaran konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat membunuh larva *Aedes aegypti* L. sebesar 5 % dan 95% dari jumlah larva uji. Uji ini dilakukan tanpa ulangan dan hasilnya tidak analisis.

Telah dilakukan uji pendahuluan, dari uji ini diperoleh konsentrasi yang mematikan 1 ekor larva sebesar 400 ppm, sedangkan konsentrasi yang mematikan

semua larva sebesar 2000 ppm untuk pelarut metanol dan 1000 ppm untuk pelarut n-Heksan dan Etil asetat.

Adapun langkah kerja uji pendahuluan adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan larva *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai awal instar IV
- Menyiapkan 5 toples plastik yang diisi air sampai dengan volume 500 ml
- Memasukkan masing-masing 1 gram ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut n-heksan (PA), etil asetat (PA) dan metanol (PA) ke dalam masing-masing sedangkan 2 toples lainnya digunakan sebagai kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-).
- Memasukkan 10 ekor larva pada masing-masing toples plastik, tanpa ulangan dan ditutup menggunakan kain kasa.
- Melakukan penambahan air sebanyak 500 ml setiap 48 jam sekali
- Mengamati mortalitas larva dengan melakukan pengamatan setiap 24 jam sekali selama 48 jam. Larva mati ditandai dengan larva yang tidak bergerak saat disentuh menggunakan pipet tetes, apabila larva masih bergerak saat disentuh maka larva tersebut masih belum mati.

Bentuk rancangan penelitian untuk uji pendahuluan :

Tabel 3.1 Rancangan Uji Pendahuluan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Berbagai Jenis Pelarut

	Perlakuan		Konsentrasi
K -	K -	K -	0 ppm
K +	K +	K +	Abate 10 ppm
EN1	ET1	EM1	2000 ppm
EN2	ET2	EM2	1000 ppm
EN3	ET3	EM3	666,67 ppm
EN4	ET4	EM4	500 ppm
EN5	ET5	EM5	400 ppm

Keterangan :

K - : Akuades (0 ppm)

K + : Abate (10 ppm)

EN : Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut n-heksan

ET : Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut etil asetat

EM : Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut metanol.

3.7.5 Uji Akhir

Pada tahap uji akhir ditentukan beberapa macam konsentrasi yang akan digunakan dengan berpedoman pada hasil uji pendahuluan. Data yang di dapat dari uji akhir nantinya akan dilakukan analisis. Pada uji akhir digunakan 5 serial konsentrasi untuk masing-masing pelarut. Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut n-heksan menggunakan serial konsentrasi sebesar 450 ppm, 600 ppm, 750 ppm, 900 ppm dan 1050 ppm. Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut etil asetat menggunakan serial konsentrasi sebesar 400 ppm, 550 ppm, 700 ppm, 850 ppm dan 1000 ppm. Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan pelarut metanol menggunakan serial konsentrasi sebesar 450 ppm, 850 ppm, 1250 ppm, 1650 ppm dan 2050 ppm. Ada sedikit perbedaan pada langkah kerja tahap uji akhir yaitu, pada masing-masing perlakuan menggunakan 20 ekor larva dengan 3 kali ulangan. Selain itu, pada tahapan uji akhir dilakukan pengamatan morfologi larva yang telah mati serta perkembangan larva nyamuk yang masih hidup sampai berkembang menjadi nyamuk dewasa.

Langkah kerja uji akhir adalah sebagai berikut :

- a. Menyiapkan larva *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai awal instar IV
- b. Menyiapkan gelas plastik yang diisi dengan masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada masing-masing jenis pelarut, abate 100 ppm (K+), air 0 ppm (K-) dan ditambah dengan air sampai mencapai 200 ml.
- c. Memasukkan 20 ekor larva pada masing-masing media dengan berbagai perlakuan yang kemudian ditutup menggunakan kain kasa.
- d. Mengamati jumlah larva *Aedes aegypti* L. yang mati dengan melakukan pengamatan setiap 24 jam sekali selama 48 jam. Larva mati ditandai dengan larva yang tidak bergerak saat disentuh menggunakan ujung pipet tetes, apabila larva masih bergerak saat disentuh maka larva tersebut masih belum mati. Untuk pengamatan kematian larva secara kimia dilakukan dengan meneteskan larutan eosin ke atas larva, apabila larva berwarna pucat atau transparan maka larva tersebut benar-benar dalam keadaan mati.

e. Menganalisis jumlah larva mati menggunakan analisis probit.

Tabel 3.2 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut N-heksan

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)					
	Pengamatan 24 jam			Pengamatan 48 jam		
	Ulangan ke-			Ulangan ke-		
	1	2	3	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3	K-U1	K-U2	K-U3
K+	K+U1	K+U2	K+U3	K+U1	K+U2	K+U3
EN1	EN1U1	EN1U2	EN1U3	EN1U1	EN1U2	EN1U3
EN2	EN2U1	EN2U2	EN2U3	EN2U1	EN2U2	EN2U3
EN3	EN3U1	EN3U2	EN3U3	EN3U1	EN3U2	EN3U3
EN4	EN4U1	EN4U2	EN4U3	EN4U1	EN4U2	EN4U3
EN5	EN5U1	EN5U2	EN5U3	EN5U1	EN5U2	EN5U3

Keterangan :

- EN 1 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut n-heksan dengan konsentrasi 450 ppm
 EN 2 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut n-heksan dengan konsentrasi 600 ppm
 EN 3 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut n-heksan dengan konsentrasi 750 ppm
 EN 4 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut n-heksan dengan konsentrasi 900 ppm
 EN 5 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut n-heksan dengan konsentrasi 1050 ppm
 K - : Kontrol air (0 ppm)
 K + : Kontrol abate (100 ppm)
 U : Ulangan

Tabel 3.3 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Etil asetat

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)					
	Pengamatan 24 jam			Pengamatan 48 jam		
	Ulangan ke-			Ulangan ke-		
	1	2	3	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3	K-U1	K-U2	K-U3
K+	K+U1	K+U2	K+U3	K+U1	K+U2	K+U3
ET1	ET1U1	ET1U2	ET1U3	ET1U1	ET1U2	ET1U3
ET2	ET2U1	ET2U2	ET2U3	ET2U1	ET2U2	ET2U3
ET3	ET3U1	ET3U2	ET3U3	ET3U1	ET3U2	ET3U3
ET4	ET4U1	ET4U2	ET4U3	ET4U1	ET4U2	ET4U3
ET5	ET5U1	ET5U2	ET5U3	ET5U1	ET5U2	ET5U3

Keterangan :

- ET 1 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut etil asetat dengan konsentrasi 400 ppm
 ET 2 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut etil asetat dengan konsentrasi 550 ppm
 ET 3 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut etil asetat dengan konsentrasi 700 ppm
 ET 4 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut etil asetat dengan konsentrasi 850 ppm
 ET 5 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut etil asetat dengan konsentrasi 1000 ppm
 K - : Kontrol akuades (0 ppm)
 K + : Kontrol abate (100 ppm)

U : Ulangan

Tabel 3.4 Rancangan Uji Akhir Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Metanol

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)					
	Pengamatan 24 jam			Pengamatan 48 jam		
	Ulangan ke-			Ulangan ke-		
	1	2	3	1	2	3
K -	K-U1	K-U2	K-U3	K-U1	K-U2	K-U3
K +	K+U1	K+U2	K+U3	K+U1	K+U2	K+U3
EM1	EM1U1	EM1U2	EM1U3	EM1U1	EM1U2	EM1U3
EM2	EM2U1	EM2U2	EM2U3	EM2U1	EM2U2	EM2U3
EM3	EM3U1	EM3U2	EM3U3	EM3U1	EM3U2	EM3U3
EM4	EM4U1	EM4U2	EM4U3	EM4U1	EM4U2	EM4U3
EM5	EM5U1	EM5U2	EM5U3	EM5U1	EM5U2	EM5U3

Keterangan :

- EM 1 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut metanol dengan konsentrasi 450 ppm
 EM 2 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut metanol dengan konsentrasi 850 ppm
 EM 3 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut metanol dengan konsentrasi 1250 ppm
 EM 4 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut metanol dengan konsentrasi 1650 ppm
 EM 5 : Ekstrak daun sirih hijau pelarut metanol dengan konsentrasi 2050 ppm
 K - : Kontrol akuades (0 ppm)
 K + : Kontrol abate (1 ppm)
 U : Ulangan

3.7.6 Analisis Data

Untuk mengetahui persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat toksisitas ekstrak daun sirih hijau dengan berbagai pelarut dihitung menggunakan rumus:

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

Analisis data menggunakan *SPSS for windows* versi 17,0. Untuk mengetahui apakah semua perlakuan dengan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berbeda nyata atau tidak dianalisis menggunakan analisis varian (ANAVA). Bila berbeda nyata dihitung dengan uji Duncan dengan taraf 5%.

untuk menentukan nilai LC_{50} – 24 jam, LC_{50} – 48 jam, dan LC_{90} – 24 jam, LC_{90} - 48 jam dari serial konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) digunakan analisis probit.

3.7.7 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- a. Toksisitas ekstrak daun sirih hijau terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L diketahui dengan adanya kematian pada larva. Kematian pada larva ditunjukkan dengan menyentuh pipet tetes pada larva, jika tidak bergerak maka larva mati. Sebaliknya bila larva bergerak larva masih hidup. Kemudian dilakukan pengamatan dengan meneteskan 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 dan kelembaban lingkungan. Pengamatan suhu dilakukan dengan termometer dan pengamatan kelembaban udara dilakukan dengan higrometer. Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan 2 kali dengan interval waktu pengamatan 24 jam.

3.7.8 Alur penelitian

