

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W.T. Ait)
TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Oleh :

**Zaniroh
20144322A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W.T. Ait)
TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Oleh :

**Zaniroh
20144322A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W.T. Ait)
TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

Oleh :
Zaniroh
20144322 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 5 Januari 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
2. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
3. Ghani Nurfiana, M.Farm., Apt.
4. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.

1.

3.

2.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Allah memberikan hikmat kebijaksanaan (ilmu yang berguna) kepada sesiapa yang dikehendakiNya (menurut aturan yang ditentukanNya). Dan sesiapa yang diberikan Hikmat itu maka sesungguhnya ia telah diberikan kebaikan yang banyak. dan tiadalah yang dapat mengambil pengajaran (dan peringatan) melainkan orang-orang yang menggunakan akal fikirannya. (Al baqoroh : 269)”

“ilmu itu lebih baik daripada harta. ilmu menjaga engkau dan engkau menjaga harta. ilmu itu penghukum (hakim) dan harta terhukum. harta itu kurang apabila dibelanjakan tapi ilmu bertambah bila dibelanjakan. (Sayidina Ali bin Abi Talib)”

“Tak usah khawatir. Kaulah anak Adam lari dari rezekinya sebagaimana ia lari dari kematian, niscaya rezekinya akan mengējarnya sebagaimana kematian itu akan mengējarnya (HR. Ibnu Hibban)”

“ingat apa tujuanmu, walaupun sesusah apa ingatlah tujuanmu, ketika harus memutar atau cari jalan lain lakukanlah dan akhirnya kau sampai pada tujuanmu. Allah selalu punya cara untuk membantumu menyelesaikan masalah. Jadi, jangan jauh-jauh dari Allah”

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

Ayah dan Ibu

Suparjo dan Warsini Untari

“yang selalu menyayangiku dan telah membesarkanku”

Almamater

Universitas Setia Budi Surakarta

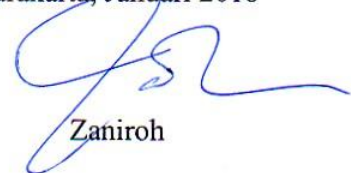
Tempat penulis menimba ilmu pengetahuan Farmasi

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Januari 2018



Zaniroh

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum W.W.

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W. T. Ait) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*”** ini dengan baik.

Adapun skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang tradisional khususnya. Sebelum dan selama masa penelitian maupun selama penyusunan, banyak pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini. Maka pada kesempatan yang berharga ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. Selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari Su., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Opstaria Saptarini M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah memberi dukungan, nasehat, petunjuk, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Fransiska Leviana M.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, dan bimbingan sehingga penyusunan skripsi ini terselesaikan.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Asisten Dosen, seluruh Staf Perpustakaan, dan Staf Laboratorium, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.

7. Kedua orang tuaku, Bapak Suparjo dan Ibu Warsini Untari atas doa, kasih sayang, memberikan semangat, nasehat, dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat-sahabatku, untuk adikku Kholil dan Zaid yang memberiku semangat, untuk Mutiya Nur Rizky Meilinasari tukang mager, Riska Fridanesti tukang tidur di grup larva yang suka heboh sendiri, mas joko, dan pak libra yang sudah membantu dan mendukung untuk mencetak.
9. Teman-teman teori 5 dan fkk 1 yang berjuang bersama, semangat buat langkah selanjutnya.
10. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu yang telah membantu penelitian.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pertimbangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wabillahittaufik walhidayah wassalamu'alaikum W. W.

Surakarta, Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Kamboja	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Morfologi tanaman	5
3. Khasiat dan kegunaan	6
4. Kandungan Kimia.....	6
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia.....	7
2. Pencucian dan pengeringan simplisia	7
C. Metode Penyarian Simplisia	8
1. Penyarian.....	8
2. Soxhletasi	8
3. Fraksinasi	9
4. Cairan penyari untuk ekstraksi	9
4.1 Etanol	10

4.2 <i>n</i> -heksana.....	10
4.3 Etil asetat	10
4.4 Air	11
D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
E. Larvasida.....	12
1. Pengertian larvasida.....	12
2. Klasifikasi	12
2.1 Organofosfat	12
2.2 Karbamat	12
2.3 Piretroid (SP).....	12
2.4 Nabati.....	12
F. Abate.....	13
G. Demam Berdarah.....	14
1. Pengertian Demam Berdarah Dengue (DBD).....	14
2. Etiologi.....	14
3. Patofisiologi dan patogenesis	15
4. Mekanisme penularan	15
5. Tindakan pencegahan DBD	16
H. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	17
1. Sistematika nyamuk.....	17
2. Morfologi	17
2.1 Telur	17
2.2 Larva	17
2.3 Pupa.....	18
2.4 Nyamuk dewasa.....	19
3. Siklus hidup.....	19
3.1 Telur	19
3.2 Larva	20
3.3 Pupa.....	20
3.4 Dewasa	20
4. Perilaku hidup.....	21
I. Landasan Teori.....	21
J. Hipotesis	23
K. Kerangka Pikir	23
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Populasi dan Sampel.....	24
1. Populasi.....	24
2. Sampel.....	24
B. Variabel Penelitian	24
1. Identifikasi variabel utama	24

2. Klasifikasi variabel utama.....	24
3. Definisi operasional variabel utama	25
C. Bahan dan Alat	26
1. Bahan	26
1.1 Bahan sampel.....	26
1.2 Bahan kimia.....	26
1.3 Subjek uji.....	26
2. Alat	26
D. Jalannya Penelitian	27
1. Determinasi tanaman kamboja	27
2. Pengambilan bahan.....	27
3. Pembuatan serbuk daun kamboja	27
4. Penetapan kadar kelembapan serbuk daun kamboja	28
5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk daun kamboja.....	27
5.1 Identifikasi saponin	27
5.2 Identifikasi alkaloid	28
5.3 Identifikasi flavonoid	28
5.4 Identifikasi polifenol.....	28
6. Pembuatan ekstrak etanol daun kamboja	28
7. Penetapan kadar air ekstrak daun kamboja	29
8. Tes bebas etanol	30
9. Fraksinasi ekstrak etanol daun kamboja	30
10. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun kamboja	30
10.1 Identifikasi saponin	30
10.2 Identifikasi alkaloid.....	31
10.3 Identifikasi flavonoid	31
10.4 Identifikasi polifenol	31
11. Penetasan telur <i>Aedes aegypti</i>	31
12. Preparasi sampel larutan uji	31
13. Uji aktivitas larvasida	32
14. Penetapan LC ₅₀	32
15. Analisis data	33
16. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun kamboja dengan KLT	33
16.1 Identifikasi saponin	34
16.2 Identifikasi alkaloid.....	34
16.3 Identifikasi flavonoid	34
16.4 Identifikasi polifenol.....	34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Hasil Penelitian	35
1. Determinasi tanaman	35
1.1 Hasil determinasi tanaman kamboja	35
1.2 Deskripsi tanaman.....	35
2. Hasil pengumpulan bahan.....	36
2.1 Hasil pemilihan daun kamboja	36
2.2 Pembuatan serbuk daun kamboja	36
3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun kamboja.....	36
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kamboja	37
5. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja	37
6. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun kamboja	38
7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kamboja	38
8. Hasil fraksinasi ekstrak daun kamboja	39
9. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi daun kamboja.....	40
10. Hasil KLT ekstrak dan fraksi daun kamboja.....	42
B. Hasil Penelitian Larvasida	43
1. Hasil preparasi sampel	43
2. Hasil uji aktivitas larvasida	44
3. Hasil penetapan LC ₅₀	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Kamboja (<i>Plumeria acuminata</i> W.T. Ait) (Farooque <i>et al</i> 2012).....	5
2. Telur nyamuk <i>Aedes aegypti</i> (Sivanathan 2006)	17
3. Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> instar I-IV (Gama <i>et al</i> 2010).....	18
4. Pupa <i>Aedes aegypti</i> (Sivanathan 2006).....	18
5. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> (Sivanathan 2006)	19
6. Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i> (Kemenkes 2010).....	21
7. Skema pembuatan ekstrak etanol daun kamboja	29
8. Skema pembuatan fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air	30
9. Skema uji aktivitas larvasida	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Persentase berat kering terhadap berat basah daun kamboja.....	36
2. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun kamboja	36
3. Rendemen ekstrak etanol daun kamboja	37
4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja.....	38
5. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun kamboja.....	38
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam serbuk dan ekstrak daun kamboja dengan pereaksi warna	39
7. Hasil rendemen fraksinasi ekstrak daun kamboja	40
8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam fraksi daun kamboja Dengan pereaksi warna.....	41
9. Hasil identifikasi KLT	42
10. Hasil preparasi larutan stok ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja.....	44
11. Hasil uji aktivitas larvasida.....	44
12. Hasil penetapan LC ₅₀	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman.....	56
2. Surat keterangan larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	57
3. Ethical clearance	58
4. Proses pembuatan serbuk, ekstrak, dan hasil.....	59
5. Corong pisah, <i>Moisture balance</i> , dan larva yang digunakan.....	60
6. Larutan stok	61
7. Identifikasi senyawa dengan reaksi warna pada serbuk, ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.....	62
8. Perhitungan rendemen pengeringan daun kamboja	64
9. Perhitungan rendemen ekstrak daun kamboja	65
10. Perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun kamboja	66
11. Perhitungan rendemen fraksinasi	67
12. Perhitungan pengambilan larutan stok pada masing-masing ekstrak dan fraksi.....	68
13. Perhitungan LC ₅₀ ekstrak dengan menggunakan analisis probit	69
14. Perhitungan LC ₅₀ fraksi <i>n</i> -heksana dengan menggunakan analisis probit	71
15. Perhitungan LC ₅₀ fraksi etil asetat dengan menggunakan analisis probit	73
16. Perhitungan LC ₅₀ fraksi air dengan menggunakan analisis probit.....	75
17. Hasil statistik.....	77
18. Hasil KLT ekstrak dan fraksi daun kamboja	81

INTISARI

ZANIROH, 2017, UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Larvasida adalah insektisida yang dipakai untuk membunuh stadium larva. Daun kamboja mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid, masing-masing dari senyawa tersebut dapat berperan sebagai larvasida alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas larvasida ekstrak dan fraksi daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait).

Penelitian ini menggunakan metode soxhletasi dengan etanol 70%. Ekstrak daun kamboja difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Seri konsentrasi yang digunakan adalah 1000, 500, 250, 125, dan 62,5 ppm. Uji aktivitas larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti* instar III dilakukan dengan menggunakan 25 ekor larva untuk masing-masing perlakuan selama 24 jam dan dianalisis dengan analisis probit untuk menentukan LC50.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC₅₀ pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja terhadap larva instar III *Aedes aegypti* masing-masing sebesar 622,364±43,271, 457,969±74,85, 225,690±7,90, dan 1754,184±299,28 ppm. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun kamboja terbukti memiliki aktivitas larvasida yang paling tinggi terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kata kunci* : Daun kamboja, fraksi etil asetat, larvasida, *Aedes aegypti

ABSTRACT

ZANIROH, 2017, TEST OF LARVACIDAL ACTIVITY OF EXTRACT, *n*-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION, AND WATER FRACTION OF FRANGIPANI LEAVES (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) AGAINST LARVAE OF *Aedes aegypti*.

Larvacidal is an insecticide used to kill the stage of larvae. The compounds of frangipani leaves is alkaloids, phenolics, saponins, and flavonoids, can be used as natural larvacide. This study aims to determinate the larvacidal activity of extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of frangipani leaves.

This research uses soxhletation with ethanol 70%. Extract frangipani leaves is fractionated by *n*-hexane, ethyl acetate, and water for solvent. The series concentration used are 1000, 500, 250, 125, dan 62,5 ppm. For larvacidal test used 25 larvae *Aedes aegypti* instar III, treatment for 24 hours and analyzed by probit analysis to obtain LC₅₀.

The result showed LC₅₀ extracts is 622,364±43,271 ppm, LC₅₀ *n*-hexane fractions is 457,969±74,85 ppm, LC₅₀ ethyl acetate fractions is 225,690±7,90 ppm, and water fractions is 1754,184±299,28 ppm. Ethyl acetate fractions of frangipani leaves has the most effective larvacidal activity against instar III of *Aedes aegypti*.

Keywords: frangipani leaves, ethyl acetate fractions, larvacidal, *Aedes aegypti*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama di Indonesia. Jumlah penderita dan luas daerah penyebarannya semakin bertambah seiring dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk. Tahun 2014, sampai pertengahan bulan Desember tercatat penderita DBD di 34 provinsi di Indonesia sebanyak 71.668 orang, dan 641 diantaranya meninggal dunia. Angka tersebut lebih rendah dibandingkan tahun sebelumnya, yakni tahun 2013 dengan jumlah penderita sebanyak 112.511 orang dan jumlah kasus meninggal sebanyak 871 penderita (Depkes 2015).

Kementrian Kesehatan RI mencatat jumlah penderita DBD di Indonesia pada bulan Januari-Februari 2016 sebanyak 8.487 orang penderita DBD dengan jumlah kematian 108 orang. Golongan terbanyak yang mengalami DBD di Indonesia pada usia 5-14 tahun mencapai 43,44% dan usia 15-44 tahun mencapai 33,25% (Depkes 2016).

Penyakit ini disebabkan oleh virus Dengue dari genus *Flavivirus*, family *Flaviviridae*. DBD ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes* yang terinfeksi virus Dengue. Virus Dengue penyebab Demam *Dengue* (DD), Demam Berdarah *Dengue* (DBD) dan *Dengue Shick Syndrome* (DSS) termasuk dalam kelompok B *Arthropod virus (Arbovirosis)* yang sekarang dikenal sebagai genus *Flavivirus*, family *Flaviviride*, dan mempunyai 4 jenis serotipe, yaitu : Den-1, Den-2, Den-3, Den-4 (Kemenkes 2010). Keempat serotipe virus dengue dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Serotipe Den-3 merupakan serotipe yang dominan dan diasumsikan banyak yang menunjukkan manifestasi klinik yang berat (Depkes 2004).

Salah satu cara pengendalian vektor demam berdarah adalah dengan pemberantasan larva (Okumu *et al* 2007). Penggunaan insektisida sintetik sebagai larvasida merupakan cara yang paling umum digunakan oleh masyarakat

untuk mengendalikan pertumbuhan vektor. Insektisida yang sering digunakan di Indonesia adalah abate (temephos) (Ardilla 2009).

Larvasida nabati dapat digunakan untuk mengendalikan larva *Aedes aegypti*. Secara umum larvasida nabati diartikan sebagai pestisida yang bahan dasarnya berasal dari bagian tumbuhan. Larvasida nabati relatif mudah dibuat dengan kemampuan dan pengetahuan yang terbatas. Oleh karena terbuat dari bagian tumbuhan, maka jenis insektisida ini mudah terurai karena residunya mudah hilang. Larvasida nabati bersifat *hit and run*, yaitu apabila diaplikasikan akan membunuh hama pada waktu itu dan setelah hamanya terbunuh akan cepat menghilang di alam (Kardinan 2003). Selain itu, umumnya larvasida nabati memiliki toksisitas yang rendah pada mamalia karena sifat inilah yang menyebabkan larvasida nabati memungkinkan untuk diterapkan pada kehidupan manusia (Novizan 2002). Contoh larvasida nabati yaitu piretrum atau piretrin, nikotin, rotenone, limonene, azadirachtin, sereh wangi (Kemenkes 2012).

Eksplorasi larvasida pada tanaman ditemukan berdasarkan senyawa kimia bioaktif, dengan aktivitas melawan spesies termasuk serangga dengan target tertentu. Metabolit sekunder banyak terdapat pada tanaman dengan mekanisme melawan serangga. Sehingga senyawa kimia bioaktif ini dapat bertindak sebagai insektisida, penghambat oviposition, repelant, dan penghambat pertumbuhan. Penelitian terbaru membuktikan keefektifan senyawa turunan seperti saponin, steroid, isoflavonoid, minyak atsiri, alkaloid, dan tanin berpotensi sebagai larvasida. Metabolit sekunder dari tanaman dan sintetiknya dapat digunakan sebagai alternatif kontrol nyamuk (Ninan *et al* 2017).

Tanaman kamboja dapat digunakan sebagai larvasida nabati. Daun kamboja memiliki senyawa bioaktif seperti saponin, alkaloid, polifenol, dan flavonoid. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva menjadi korosif (Aminah *et al* 2001), alkaloid dapat merusak sel dan mengganggu sistem kerja saraf larva, flavonoid bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan atau sebagai racun pernapasan (Cania *et al* 2013), dan senyawa polifenol berperan sebagai racun perut sehingga menyebabkan kematian larva.

Penelitian yang dilakukan Khausik *et al* (2009) membuktikan bahwa ekstrak daun kamboja (*Plumeria alba*) berpengaruh pada kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar IV dengan nilai LC_{50} 220 ppm. Penggunaan ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba*) dapat mempengaruhi kematian larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} 132 ppm (Rolliana 2010). Aktivitas larvasida antara *Aedes aegypti* dan *Artemia salina* ekstrak *Cladonia substellata* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan yaitu LC_{50} ekstrak kloroform *Cladonia substellata* terhadap *Aedes aegypti* sebesar 7,77 ppm dan LC_{50} ekstrak kloroform *Cladonia substellata* terhadap *Artemia saliana* sebesar 8,6 ppm (Adriano 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas larvasida daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait). Penelitian ini menguji aktivitas larvasida dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah : pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III?

Kedua, manakah aktivitas larvasida yang paling efektif di antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III?

Ketiga, berapa besar daya larvasida ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang dinyatakan dengan harga LC_{50} ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk: pertama, mengetahui ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun kamboja

(*Plumeria acuminata* W.T. Ait) mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, mengetahui aktivitas larvasida yang paling efektif diantara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Ketiga, mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang dinyatakan dengan harga LC₅₀.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai awal dari penggunaan larvasida alami di masyarakat, sehingga dapat mengurangi pengaruh negatif penggunaan larvasida sintetik, dan sebagai landasan bagi pengembangan lebih lanjut ekstrak daun kamboja sebagai bahan obat yang dapat memperkaya khasanah bahan obat alam Indonesia.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kamboja

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman kamboja menurut Depkes (2004) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Apocynales
Family	: Apocynaceae
Marga	: Plumeria
Jenis	: <i>Plumeria acuminata</i> , W.T. Ait

Tanaman kamboja memiliki nama daerah: samoja (Sunda), kamboja (Jawa), cempaka sabakul (Madura), bungo lomilate (Gorontalo), kalo susu (Minahasa), bunga jera (Ujung pandang), bunga jabun (Bali), bunga matandani (Roti), bunga kamboyang (Timor), cepaka butu (Halmahera utara), capaka kubu (Tidore), saya kolocucu (Ternate) (Wijayakusuma 2000).



Gambar 1. Kamboja (*Plumeria acuminata*, W.T. Ait) (Farooque *et al* 2012).

2. Morfologi tanaman

Pohon kecil yang banyak bercabang, tinggi 3-7 meter, mengandung getah. Batang pokoknya besar, tumbuh membengkok, berkayu keras dengan cabang-cabang gemuk berdaging, sedang cabang muda muda lunak dan terdapat tanda bekas tangkai daun yang telah lepas. Daun tunggal, duduk berkarang bergerombol

di ujung tangkai, bertangkai panjang. Helaiian daun berbentuk lanset, kaku seperti kulit, panjang 20-40 cm, lebar 6-12,5 cm, ujung runcing, pangkal menyempit, tepi rata, tulang daun menyirip. Bunga dalam mulai rata, berkumpul di ujung ranting, berbentuk terompet, sisi dalam berambut, warnanya agak kuning, mahkota bunga berwarna putih atau merah, wangi. Buahnya buah bumbung, satu atau dua, saling berjauhan, berbentuk tabung memanjang yang gepeng, panjang 18-20 cm, lebar 2 cm, berongga dua, warnanya hitam kecoklatan, berbiji banyak. Kamboja dikembangkan dengan setek batang atau biji. Tumbuhan ini berasal dari Amerika tropis, biasa ditanam sebagai tanaman hias di pekarangan, taman-taman, kuburan, atau tumbuh liar dan dapat ditemukan dari 1-700 meter di atas permukaan laut (Wijayakusuma 2000).

3. Khasiat dan kegunaan

Penelitian yang dilakukan Kaushik (2009), menemukan bahwa ekstrak daun kamboja berpengaruh pada kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan LC₅₀ 220 ppm. Fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan etanol dari ekstrak daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) mampu menyembuhkan luka pada punggung kelinci yang sudah diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* (Gunawan *et al* 2010). Menurut penelitian Rolliana (2010) pemberian ekstrak daun kamboja berpotensi terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach dengan harga LC₅₀ sebesar 132 ppm. Kegunaan lain dari kamboja adalah mencegah pingsan karena udara terlalu panas, radang usus, cacingan, sabelit, kapalan, telapak kaki bengkak dan pecah-pecah (Wijayakusuma 2000).

4. Kandungan kimia

Anilkumar (2010) menemukan ekstrak dari daun kamboja mengandung steroid, flavonoid, glikosida, alkaloid, dan tanin. Menurut Choudhary *et al* (2014), tanaman kamboja memiliki senyawa steroid, flavonoid, tanin, alkaloid, dan glikosida. Penelitian Gunawan *et al* (2010) menyebutkan bahwa kandungan kimia ekstrak daun kamboja diantaranya alkaloid, saponin, flavonoid, dan senyawa polifenol.

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes 2000).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes 2000).

Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Depkes 2000).

2. Pencucian dan Pengeringan simplisia

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

Menurut Pramono (2005) jika kadar air dalam bahan masih tinggi dapat memicu enzim melakukan aktivitasnya mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya. Hal ini tidak akan terjadi jika bahan yang telah dipanen segera dikeringkan sehingga kadar airnya rendah. Beberapa enzim merusak kandungan kimia telah lama dikenal antara lain hidrolase, oksidase dan polimerase.

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penurunan mutu atau kerusakan simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik tidak akan berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% (Prastowo 2013).

Hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60°C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C sampai 45°C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (menggunakan instrumen) (Depkes 2000).

C. Metode Penyarian Simplisia

1. Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemisahan masa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari lebih luas. Metode penyarian adalah soxhletasi. Pemilihan metode di atas dilakukan untuk memperoleh hasil yang baik (Depkes 1986).

2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian dengan menggunakan alat pengestraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu dan bahan yang diekstraksi berada dalam kantong (kertas saring). Wadah gelas yang berisi kantong diletakkan diantara pendingin balik dan labu yang dihubungkan melalui pipa pipet. Labu yang berisi bahan pelarut menguap dan mencapai pendingin aliran balik melalui pipet, terkondensasi di dalam dan menetes di atas bahan yang diekstraksi sambil

membawa keluar kandungan bahan yang diekstraksi. Pelarut yang terkumpul di dalam wadah gelas setelah mencapai tinggi maksimum akan turun ke dalam labu alas bulat, dengan demikian zat terekstraksi terkumpul melalui penguapan kontinyu dari pelarut pengestraksi. Pada cara ini diperlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil dan simplisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus menerus (Voigt 1994). Keuntungan ekstraksi dengan Soxhlet adalah sampel yang terekstraksi sempurna, proses ekstraksi cepat, dan pelarut yang digunakan sedikit. Kekurangan dari metode ini adalah sampel yang digunakan tidak tahan terhadap panas (Harbone 1987).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu senyawa berdasarkan kepolarannya. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi berbeda. Mula-mula serbuk simplisia disari berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda kepolaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian disari dengan pelarut yang kurang polar dan terakhir dengan pelarut polar (Harborne 1987). Proses ekstraksi ini sangat tergantung pada sifat tumbuhan dan senyawa yang akan diisolasi. Untuk mengekstraksi senyawa utama yang terdapat dalam bahan tumbuhan dapat digunakan pelarut yang cocok.

Ekstraksi cair-cair dapat dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok sampai terjadi kesetimbangan dan dibiarkan sampai benar-benar memisah. Pengadukan campuran ekstraksi yang terlalu keras tidak bermanfaat, membolak-balik wadah secara biasa berulang-ulang sudah memadai untuk memberi kesetimbangan (Bassett *et al* 1994).

4. Cairan penyari untuk ekstraksi

Larutan penyari yang digunakan harus dapat mencapai seluruh serbuk dan secara terus menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi lebih tinggi untuk keluar. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yang murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya mampu menarik zat

berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986; Depkes 2005).

4.1 Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Depkes 2005). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh pada etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan pemekatannya lebih mudah (Depkes 1986). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat pelarut. Keuntungan lainnya adalah sifat untuk mengendapkan bahan albumin dan dapat menghambat kerja enzim. Umumnya berlaku sebagai cairan pengestraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan, terutama campuran etanol-air. Etanol biasanya menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestraksi (Voigt 1994).

4.2 *n*-heksana. *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, flavonoid, steroid, asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 2005, Febriyanti *et al* 2013).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid dan dapat melarutkan air hingga 3% (Harborne 1987). Etil aetat merupakan pelarut semipolar, mudah terbakar, dan menguap. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan eter, etanol, dan kloroform (Depkes 1979). Etil asetat bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil aetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan flavonoid, kuinon, polifenol, saponin, dan tanin (Febriyanti *et al* 2013).

4.4 Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun. Air dapat melarutkan enzim sehingga yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang menyebabkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisa. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan di samping zat aktif ikut tersari juga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes 1986). Pelarut air dipilih karena air dapat melarutkan garam, alkaloid, flavonoid, kuinon, polifenol, saponin, tanin, gula, gom, pati, protein, lendir, enzim, zat warna, dan asam organik (Depkes 2005, Febriyanti *et al* 2013).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu metode pemisahan senyawa yang sederhana adalah kromatografi lapis tipis (Hortettmann 1986). Pada dasarnya prinsip pada KLT sama dengan kromatografi kertas hanya KLT mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya (Harbone 1996). KLT mempunyai beberapa keuntungan, di antaranya: waktu yang dibutuhkan tidak lama (2-5 menit) dan sampel yang dipakai hanya sedikit sekali (2-20 µg). Kerugian dengan menggunakan KLT adalah tidak efektif untuk skala industri. Walaupun lembaran KLT yang digunakan lebih lebar dan tebal, pemisahannya sering dibatasi hanya sampai beberapa milligram sampel saja (Mayo 2000).

Pada metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan penentuan nilai R_f (Retention Factor) pada bercak noda, dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Harga R_f berkisar antara 0,1-0,9 dan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: pelarut, suhu, struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, jumlah cuplikan yang digunakan serta teknik percobaan (Sastrohamidjojo 2007). Identifikasi senyawa tak berwarna pada lempeng,

biasanya digunakan sinar UV (254 nm dan 366 nm) dan regen semprot (Hostetman 1995).

E. Larvasida

1. Pengertian larvasida

Insektisida adalah bahan yang mengandung persenyawaan kimia yang digunakan untuk membunuh serangga. Larvasida yaitu insektisida yang dipakai untuk membunuh stadium larva. Menurut macamnya bahan kimia, insektisida dibagi dalam insektisida anorganik, insektisida organik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan golongan insektisida yang berasal dari bumi, insektisida organik sintetik (Gandahusada *et al* 1998).

2. Klasifikasi

2.1 Organofosfat. Insektisida ini bekerja dengan menghambat enzim kolinesterase. OP banyak digunakan dalam kegiatan pengendalian vector, baik untuk *space spraying*, IRS, maupun larvasida. Contoh : melation, fenitrotrion, temefos, metil-pirimifos.

2.2 Karbamat. Cara kerja insektisida ini identik dengan OP, namun bersifat reversibel (pulih kembali) sehingga relatif lebih aman dibandingkan OP. Contoh: bendiocarb, propoksur.

2.3 Piretroid (SP). Insektisida ini lebih dikenal sebagai *synthetic pyretroid* (SP) yang bekerja mengganggu sistem syaraf. Golongan SP banyak digunakan dalam pengendalian vektor untuk serangga dewasa (*space spraying* dan IRS), kelambu celup atau *Insecticide Treated Net* (ITN), *Long Lasting Insecticidal Net* (LLIN), dab berbagai formulasi insektisida rumah tangga. Contoh: metoflutrin, transflutrin, d-fenotrin, lamda-sihalotrin, permetrin, sipermetrin, deltametrin, etofenproks.

2.4 Nabati. Insektisida nabati merupakan kelompok insektisida yang berasal dari tanaman. Contoh: piretrum atau piretrin, nikotin, rotenone, limonene, azadirachtin, sereh wangi (Kemenkes 2012).

F. Abate

Abate adalah insektisida organofosfat non sistemik yang digunakan untuk mengontrol nyamuk, larva, blackfly (*Simulidae*), dan lain-lain. Abate mengandung temephos 1% sebagai zat aktifnya. Pestisida yang termasuk golongan ini dapat masuk melalui kulit, terhirup lewat pernapasan dan termakan lewat mulut.

Golongan pestisida ini mempunyai cara kerja menghambat enzim *cholinesterase*, baik pada vetebrata maupun invetebrata, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya asetikolin pada ujung syaraf. Fungsi dari enzim *cholinesterase* adalah menghidrolisa asetikolin menjadi kolin dan asam cuka, sehingga bila enzim tersebut dihambat maka hidrolisa asetikolin tidak terjadi sehingga otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama maka akan terjadi kekejangan. Dengan menggunakan temephos yang merupakan salah satu dari golongan pestisida organofosfat maka enzim *cholinesterase* akan diikat atau dihancurkan sehingga terjadi kekejangan otot terus menerus, dan akhirnya mati (Nugroho 2013).

Penetrasi abate ke dalam larva berlangsung sangat cepat, keracunan fosfat organik pada serangga diikuti ketidaknenangan, hipereksitasi, tremor dan konvulsi, kemudian kelumpuhan otot, pada larva nyamuk kematiannya disebabkan oleh karena tidak dapat mengambil udara untuk bernafas (Kamble 2012).

Temephos biasa digunakan berbentuk butiran pasir (*sand granules*) dan ditaburkan ditempat yang biasa digunakan untuk menampung air. Dosis yang biasa digunakan adalah 1 gram untuk 10 liter air, daya bunuh paling cepat didapatkan dari dosis 400 mg/L-500 mg/L air (Florensia *et al* 2014). Abate memiliki LC_{50} sebesar 0,56 ppm (Utami 2011). Bahan kimia ini mempunyai kemampuan untuk membunuh larva selama 3 bulan dan tidak berbahaya. Temephos relatif aman dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Meskipun begitu, dalam dosis tinggi, temephos dapat menimbulkan overstimulasi sistem syaraf menyebabkan pusing, mual, kebingungan dan pada paparan yang sangat tinggi dapat menyebabkan paralisa nafas dan kematian (USEPA 2007).

G. Demam Berdarah

1. Pengertian Demam Berdarah *Dengue* (DBD)

Penyakit demam berdarah atau *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Kedua nyamuk ini terdapat hampir di seluruh pelosok Indonesia, kecuali di tempat-tempat ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut (Depkes 2007).

DHF/DBD adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan dari orang ke orang lain melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*, dapat menimbulkan kematian yang singkat dan sering menimbulkan wabah. Penyakit demam berdarah dengue adalah penyakit menular yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*, yang ditandai dengan demam mendadak 2 sampai 7 hari tanpa penyebab yang jelas, lemah/lesu, gelisah, nyeri ulu hati, disertai tanda perdarahan di kulit berupa bintik perdarahan atau ruam (purpura). Kadang-kadang mimisan, berak darah, muntah darah, kesadaran menurun atau renjatan (*shock*) (Depkes 2007).

2. Etiologi

Penyakit demam berdarah *dengue* disebabkan oleh virus *dengue* dari genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. DBD ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes* yang terinfeksi virus *dengue*. Virus *dengue* penyebab Demam Dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD) dan *dengue shock syndrome* (DSS) termasuk dalam kelompok *B Arthropod virus Arbovirolosis* yang sekarang dikenal sebagai genus *Flavivirus*, family *Flaviviride*, dan mempunyai 4 jenis serotipe, yaitu ; DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4 (Kemenkes 2010).

Di Indonesia pengamatan virus dengue yang dilakukan sejak tahun 1975 di beberapa rumah sakit menunjukkan ke empat serotipe ditemukan dan bersirkulasi sepanjang tahun. Serotipe DEN-3 merupakan serotipe yang dominan dan diasumsikan banyak yang menunjukkan menifestasi klinik yang berat (Sukohar 2014).

3. Patofisiologi dan Patogenesis

Fenomena patofisiologi utama menentukan berat penyakit dan membedakan demam berdarah *dengue* dengan *dengue* klasik ialah tingginya permeabilitas dinding pembuluh darah, menurunnya volume plasma, terjadinya hipotensi, trombositopenia, dan diabetes hemoragik. Meningginya nilai hematokrit pada penderita dengan renjatan menimbulkan dugaan bahwa renjatan terjadi sebagai akibat kebocoran plasma ke daerah ekstra vaskuler melalui kapiler yang rusak dengan mengakibatkan menurunnya volume plasma dan meningginya nilai hematokrit (Sukohar 2014).

Patogenesis DBD masih belum jelas. Berdasarkan berbagai data epidemiologi diambil 2 hipotesis yang sering dijadikan rujukan untuk menerangkannya. Kedua teori tersebut adalah *the secondary heterotypic antibody dependent enhancement of a dengue virus infection* yang lebih banyak dianut, dan gabungan efek jumlah virus, virulensi virus, dan respon imun inang (Sudjana 2010).

Virus *dengue* masuk ke dalam tubuh inang kemudian mencapai sel target yaitu makrofag. Sebelum mencapai sel target maka respon imun non-spesifik dan spesifik tubuh akan berusaha menghalanginya. Akibat kejadian ini maka terjadi ekstrasvasi cairan dari intravaskuler ke ekstrasvasuler dan menyebabkan terjadinya tanda kebocoran plasma seperti hemokonsentrasi, hipoproteinemia, efusi pleura, asites, penebalan dinding vesica fellea dan syok hipovolemik. Kenaikan permeabilitas kapiler ini berimbas pada terjadinya hemokonsentrasi, tekanan nadi menurun dan tanda syok lainnya merupakan salah satu patofisiologi yang terjadi pada DBD (Sudjana 2010).

4. Mekanisme penularan

Terdapat tiga faktor yang memegang peranan pada penularan infeksi virus *dengue*, yaitu manusia, virus, dan faktor perantara. Virus *dengue* ditularkan kepada manusia melalui nyamuk *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis* dan beberapa spesies yang lain dapat juga menularkan virus ini, namun merupakan vaktor yang kurang berperan. *Aedes* tersebut mengandung virus *dengue* pada saat menggigit manusia yang sedang viremia. Kemudian virus

yang berada di kelenjar liur berkembang biak dalam waktu 8-10 hari (*extrinsic incubation period*) sebelum dapat ditularkan kembali pada manusia pada saat gigitan berikutnya. Sekali virus dapat masuk dan berkembang biak di dalam tubuh, nyamuk tersebut akan menularkan virus selama hidupnya (infektif).

Dalam tubuh manusia, virus memerlukan waktu masa tunas 4-6 hari (*intrinsic incubation period*) sebelum menimbulkan penyakit. Penularan dari manusia kepada nyamuk dapat terjadi bila nyamuk menggigit manusia yang sedang mengalami viremia, yaitu 2 hari sebelum panas dampai 5 hari setelah timbul (Sukohar 2014).

5. Tindakan pencegahan DBD

Gerakan pemberantasan sarang nyamuk (PSN) adalah keseluruhan kegiatan yang dilakukan oleh masyarakat dan pemerintah untuk mencegah penyakit DBD yang disertai pemantauan hasil-hasilnya secara terus menerus. Gerakan PSN DBD merupakan bagian terpenting dari keseluruhan upaya pemberantasan penyakit DBD, dan merupakan bagian dari upaya mewujudkan kebersihan lingkungan serta perilaku sehat dalam rangka mencapai masyarakat dan keluarga sejahtera (Depkes 2007).

Hingga saat ini cara pencegahan atau pemberantasan demam berdarah dengue yang dapat dilaksanakan dengan memberantas vektor untuk memutuskan rantai penularan. Salah satu pemberantasan ditujukan pada larva *Aedes aegypti*. Cara yang biasa digunakan untuk membunuh larva adalah dengan menggunakan larvasida.

Larvasida yang termasuk pestisida, yang sering digunakan yaitu abate (temephos). Penggunaannya pada tempat penampungan air minum telah dinyatakan aman oleh WHO dan Depkes RI. Dengan formula molekuler abate merupakan pestisida yang digunakan secara umum, mengandung produk yang sedikit beracun (EPA toxicity class III). Temephos adalah insektisida organofosfat non sistemik yang digunakan untuk mengontrol nyamuk, larva *black fly* (*Simulidae*), dan lain-lain.

H. Nyamuk *Aedes aegypti*

1. Sistematika nyamuk

Klasifikasi nyamuk *Aedes aegypti* menurut Sivanathan (2006) :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Insecta</i>
Ordo	: <i>Diptera</i>
Famili	: <i>Culicidae</i>
Sub famili	: <i>Culicinae</i>
Genus	: <i>Aedes</i>
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i>

2. Morfologi

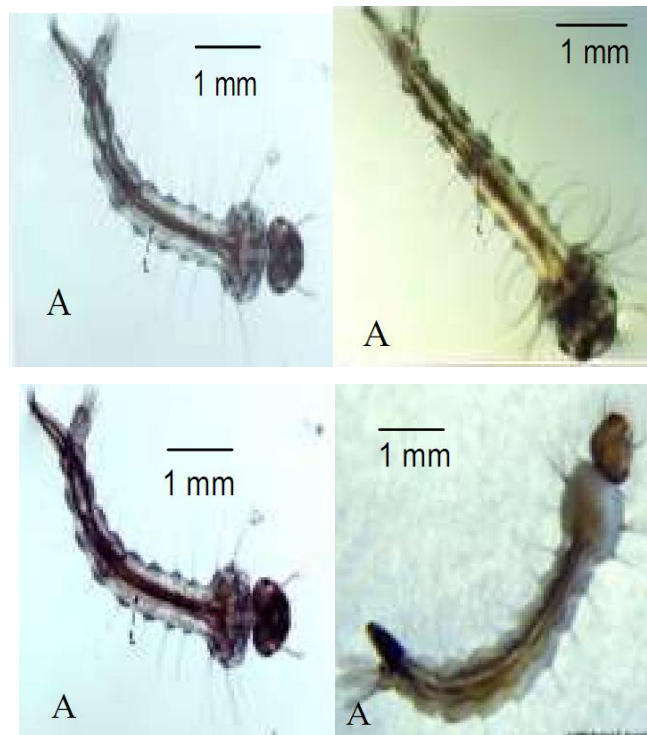
2.1 Telur. Telur *Aedes aegypti* berbentuk lonjong, panjangnya $\pm 0,6$ mm dan beratnya 0,0113 mg. pada waktu dilektakkan telur berwarna putih, 15 menit kemudian telur menjadi abu-abu dan setelah 40 menit menjadi hitam. Pada dindingnya terdapat garis-garis menyerupai kawat kasa atau sarang tawon (Sungkar 2005).



Gambar 2. Telur nyamuk *Aedes aegypti* (Sivanathan 2006).

2.2 Larva. Larva *Aedes aegypti* melalui 4 stadium larva dari instar I, II, III, dan IV. Larva instar I, tubuhnya sangat kecil, warna transparan, panjang 1-2 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada belum begitu jelas, dan corong pernapasan belum menghitam. Larva instar II bertambah besar, ukuran 2,5-3,9 mm duri dada belum jelas, dan corong pernapasan sudah berwarna hitam. Larva instar III berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernafasan berwarna coklat kehitaman. Larva instar IV telah lengkap struktur anatominya dan jelas tubuh dapat dibagi menjadi bagian kepala, dada, dan perut. Larva instar IV

mempunyai tanda khas yaitu pelana yang terbuka pada segmen anal, sepasang bulu siphon dan gigi sisir yang berduri lateral pada segmen abdomen ke-7 (Sungkar 2005).



Gambar 3. Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar I-IV (Gama *et al* 2010).

2.3 Pupa. Pupa nyamuk *Aedes Aegypti* bentuk tubuhnya bengkok, dengan bagian kepala-dada lebih besar bila dibandingkan dengan bagian perutnya, sehingga tampak seperti tanda baca “koma”. Pada bagian punggung dada terdapat alat bernapas seperti terompet. Pada ruas perut ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Alat pengayuh tersebut berjumbai panjang dan bulu di nomor 7 pada ruas perut ke-8 tidak bercabang (Sungkar 2005).



Gambar 4. Pupa *Aedes aegypti* (Sivanathan 2006).

2.4 Nyamuk dewasa. Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berukuran kecil, bewarna hitam dengan bintik-bintik putih ditubuhnya dan cincin-cincin putih dikakinya (Jirakanjanakit dan Dujardin 2005). Bagian tubuh terdiri atas kepala, thorax dan abdomen. Tanda khas *Aedes aegypti* berupa gambaran *lyre form* pada bagian dorsal thorax. Sayap berukuran 2,5-3 mm, bersisik hitam, mempunyai vena yang permukaannya ditumbuhi sisik-sisik sayap (*wing scales*) yang letaknya mengikuti vena. Pada pinggir sayap terdapat sederet rambut yang disebut *fringe* (Gandahusada 1998; Sumarmo 1998; Sungkar 2005).



Gambar 5. Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa (Sivanathan 2006).

3. Siklus hidup

Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* secara sempurna yaitu melalui empat stadium, yaitu telur, larva, pupa, dan dewasa (Sudarto 1972).

3.1 Telur. Pada waktu dikeluarkan, telur *Aedes aegypti* bewarna putih, dan berubah menjadi hitam dalam waktu 30 menit. Telur diletakkan satu demi satu di permukaan air, atau sedikit di bawah permukaan air dalam jarak lebih kurang 2,5 cm dari tempat perindukan. Telur dapat bertahan sampai berbulan-bulan dalam suhu 2°C-4°C, namun akan menetas dalam waktu 1-2 hari pada kelembapan rendah. Pada kondisi normal, telur *Aedes aegypti* yang direndam dalam air akan menetas sebanyak 80% pada hari pertama dan 95% pada hari kedua. Telur *Aedes aegypti* berukuran kecil (50 μm), sepintas tampak bulat panjang dan berbentuk lonjong (oval) mempunyai torpedo. Di bawah mikroskop, pada dinding luar (*exochorion*) telur nyamuk ini, tampak adanya garis-garis membentuk gambaran seperti sarang lebah. Berdasarkan jenis kelaminnya,

nyamuk jantan akan menetas lebih cepat dibanding nyamuk betina, serta lebih cepat menjadi dewasa. Faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah suhu, pH air perindukan, cahaya, serta kelembapan di samping fertilitas telur itu sendiri (Sudarto 1972).

3.2 Larva. Setelah menetas, telur akan berkembang menjadi larva (jentik-jentik). Pada stadium ini, kelangsungan hidup larva dipengaruhi suhu, pH air perindukan, ketersediaan makanan, cahaya, kepadatan larva, lingkungan hidup, serta adanya predator (Sudarto 1972).

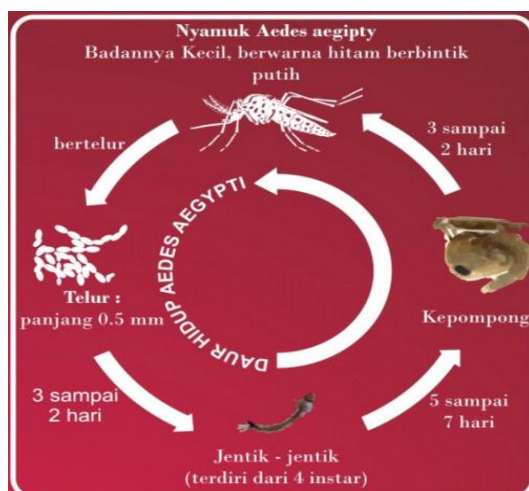
Temperatur optimal untuk perkembangan larva adalah 25°C-30°C. larva berubah menjadi pupa memerlukan waktu 4-9 hari dan melewati empat fase atau biasa disebut instar. Perubahan instar tersebut disebabkan larva mengalami pengelupasan kulit atau biasa disebut ecdisi/*moulting*. Perkembangan dari instar I ke instar II berlangsung dalam 2-3 hari, kemudian dari instar II ke instar III dalam waktu 2 hari, dan perubahan dari instar III ke instar IV dalam waktu 2-3 hari (Sudarto 1972).

3.3 Pupa. Larva instar IV akan berubah menjadi pupa yang berbentuk bulat gemuk menyerupai tanda koma. Untuk menjadi nyamuk dewasa diperlukan waktu 2-3 hari. Suhu untuk perkembangan yang optimal adalah sekitar 27°C-32°C.

Pada pupa terdapat kantong udara yang terletak di antara bakal sayap nyamuk dewasa dan terdapat sepasang sayap pengayuh yang saling menutupi sehingga memungkinkan pupa untuk menyelam cepat dan mengadakan serangkaian gerakan sebagai reaksi terhadap rangsang. Stadium pupa tidak memerlukan makanan. Bentuk nyamuk dewasa timbul setelah sobeknya selongsong pupa oleh gelembung udara karena gerakan aktif pupa (Sudarto 1972).

3.4 Dewasa. Setelah keluar dari selongsong pupa, nyamuk akan diam beberapa saat di selongsong pupa untuk mengeringkan sayapnya. Nyamuk betina dewasa menghisap darah sebagai makanannya, sedangkan nyamuk jantan hanya makan cairan buah-buahan dan bunga. Setelah berkopulasi, nyamuk betina menghisap darah dan tiga hari kemudian akan bertelur sebanyak kurang lebih 100 butir. Nyamuk akan menghisap darah lagi.

Nyamuk dapat hidup dengan baik pada suhu 24°C-39°C dan akan mati bila berada pada suhu 6°C dalam 24 jam. Nyamuk dapat hidup pada suhu 7°C-9°C. rata-rata lama hidup nyamuk betina *Aedes aegypti* selama 10 hari (Sudarto 1972).



Gambar 6. Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* (Kemenkes 2010)

4. Perilaku hidup

Nyamuk *Aedes aegypti* bersifat diurnal atau aktif pada pagi hingga siang hari. Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang menghisap darah. Hal itu dilakukannya untuk memperoleh asupan protein yang diperlukannya untuk memproduksi telur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah, dan memperoleh energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan. Jenis ini menyukai area yang gelap dan benda-benda berwarna hitam atau merah. Nyamuk *Aedes aegypti* L. jarak terbangnya pendek. Nyamuk betina mempunyai jarak terbang lebih jauh daripada nyamuk jantan (Gandahusada *et al* 1998).

I. Landasan Teori

Larvasida yaitu insektisida yang dipakai untuk membunuh stadium larva atau nimfa. Menurut macamnya bahan kimia, insektisida dibagi dalam: insektisida anorganik, insektisida organik yang berasal dari alam yang terdiri atas golongan insektisida yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, dan golongan insektisida yang berasal dari bumi, insektisida organik sintetik (Gandahusada *et al* 1998).

Eksplorasi larvasida pada tanaman ditemukan berdasarkan senyawa kimia bioaktif, dengan aktivitas melawan spesies termasuk serangga dengan target tertentu. Metabolit sekunder banyak terdapat pada tanaman dengan mekanisme melawan serangga. Sehingga senyawa kimia bioaktif ini dapat bertindak sebagai insektisida, penghambat oviposition, repelant, dan penghambat pertumbuhan. Penelitian terbaru membuktikan keefektifan senyawa turunan seperti saponin, steroid, isoflavonoid, minyak atsiri, alkaloid, dan tanin berpotensi sebagai larvasida. (Ninan *et al* 2017).

Senyawa kimia sebagai larvasida yang terkandung dalam ekstrak dapat masuk melalui dinding tubuh larva dan melalui mulut karena larva biasanya mengambil makan dari tempat hidupnya. Saponin termasuk golongan racun kontak karena dapat masuk melalui dinding tubuh larva dan racun perut melalui mulut karena larva biasanya mengambil makanan dari tempat hidupnya (Minarni *et al* 2013). Menurut Aminah *et al* (2001) bahwa saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva menjadi korosif, dan menurut Cania *et al* (2013) flavonoid bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan atau sebagai racun pernapasan. Alkaloid berupa garam sehingga dapat mendegradasi membran sel untuk masuk ke dalam dan merusak sel dan juga dapat mengganggu sistem kerja syaraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase (Cania *et al* 2013).

Tanaman kamboja dapat digunakan sebagai larvasida nabati. Daun kamboja memiliki senyawa bioaktif seperti saponin, alkaloid, polifenol, dan flavonoid. Saponin, polifenol, dan flavonoid dapat ditarik pada fraksinasi dengan pelarut etil asetat dan air, sedangkan alkaloid dapat ditarik pada fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan air,

Penggunaan tanaman kamboja telah banyak digunakan dan diteliti. Ekstrak daun kamboja (*Plumeria alba*) berpengaruh pada kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} 220 ppm. Penggunaan ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba*) dapat mempengaruhi kematian larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} 132 ppm. Ekstrak daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) menyebabkan kematian pada larva udang *Artemia salina* dengan LC_{50} sebesar

132,34 ppm. Aktivitas larvasida antara *Aedes aegypti* dan *Artemia salina* ekstrak *Cladonia substellata* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan yaitu LC_{50} ekstrak klorofom *Cladonia substellata* terhadap *Aedes aegypti* sebesar 7,77 ppm dan LC_{50} ekstrak kloroform *Cladonia substellata* terhadap *Artemia saliana* sebesar 8,6 ppm.

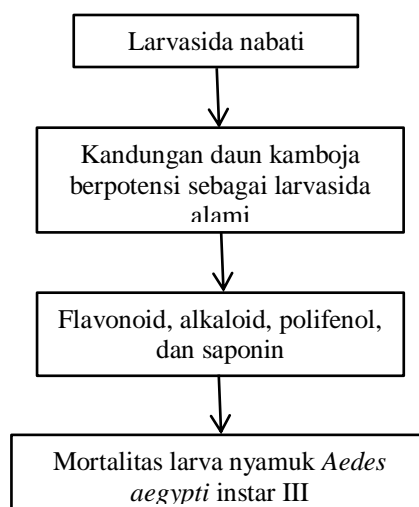
J. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu : pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. *Ait*) mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, pada fraksi etil asetat daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. *Ait*) mempunyai aktivitas larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Ketiga, pada konsentrasi tertentu ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. *Ait*) mempunyai daya larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

K. Kerangka pikir



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) yang diperoleh dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait). Daun yang diambil berwarna hijau, diambil yang tua dan muda, mempunyai kondisi fisik yang normal, tidak terdapat penyakit (tidak terserang hama) dan tidak cacat, diambil secara acak dari pangkal batang sampai ujung batang, lalu dipisahkan dari ranting. Sampel diambil secara acak di daerah Wonogiri, Jawa Tengah tahun 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) dengan metode soxhletasi dengan etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semipolar, dan air sebagai pelarut polar. Variabel utama kedua adalah aktivitas larvasida pada nyamuk *Aedes aegypti*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yakni variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun kamboja dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat selain variabel bebas. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah batas waktu pengamatan (24 jam), larva nyamuk *Aedes aegypti*, metode soxhletasi dan metode fraksinasi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian ini. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah kematian dan daya bunuh larva *Aedes aegypti* yang dinyatakan dengan nilai LC_{50} .

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kamboja adalah daun dari tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) yang didapatkan dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun kamboja adalah daun kamboja yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran kemudian dirajang dan dikering-anginkan sampai kadar air kurang dari 10%.

Ketiga, ekstrak etanol daun kamboja adalah hasil ekstraksi serbuk daun kamboja dengan menggunakan serangkaian alat soxhlet dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan cara disoxhletasi kemudian dipekatkan dengan *vacuum evaporator*.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun kamboja dengan menggunakan *n*-heksana, kemudian dipekatkan menggunakan *oven* hingga diperoleh fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun kamboja dengan menggunakan etil asetat, kemudian dipekatkan menggunakan *oven* hingga diperoleh fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah residu dari fraksi etil asetat yang dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan *oven* hingga diperoleh fraksi air.

Ketujuh, larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

Kedelapan, tingkat kematian adalah banyaknya larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati dalam konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat,

dan fraksi air daun kamboja, kemudian menghitung jumlah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* yang tenggelam didasar gelas plastik dan dinyatakan dalam satuan nominal.

Kesembilan, LC_{50} adalah konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang dapat memberikan efek kematian terhadap 50% larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Kesepuluh, uji aktivitas larvasida adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui efektivitas larutan uji untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) yang diperoleh dari Wonogiri, Jawa Tengah.

1.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan antara lain: *n*-heksana, etil asetat, aquadestilata, etanol 70%, toluene. Pereaksi : HCl, reagen Dragendorf, reagen mayer,serbuk Mg, alkohol, amil alkohol, FeCl₃, NaCl 10%, *n*-butanol, asam asetat.

1.3 Subjek uji. Subjek uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan soxhlet, neraca timbang, batang pengaduk, *vacuum evaporator*, cawan penguap, *moisture balance*, sterling bidwel, pengayak no. 40, oven, corong pisah, botol kaca gelap, pipet tetes, kain lab, tabung reaksi, gelas ukur, beaker glass, panci, batu didih, spiritus, pemanas bunsen, korek api, kertas saring, blender, *water bath*, kertas saring, aluminium foil, lempeng KLT silica gel 60 GF₂₅₄, chamber, dan alat fluoresen.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman kamboja

Determinasi tanaman yang dilakukan dalam penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun kamboja dengan mencocokkan ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun kamboja dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematik Tumbuhan Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan Bahan

Daun kamboja diambil dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah. Cara pengambilan dengan dipetik menggunakan tangan yang berwarna hijau, baik daun muda dan daun tua, mempunyai kondisi fisik yang normal, dan tidak terdapat penyakit. Kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat lalu dicuci bersih di bawah air mengalir dan dikering-anginkan.

3. Pembuatan serbuk daun kamboja

Daun kamboja yang sudah dibersihkan dan dirajang, kemudian dikering-anginkan dan di oven sampai kering. Daun kamboja yang telah kering kemudian diblender untuk memperkecil luas permukaan serbuk dan diayak dengan pengayak no. 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah. Hasil penyerbukan berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan selanjutnya digunakan untuk melakukan penelitian.

4. Penetapan kadar kelembapan serbuk daun kamboja

Susut pengeringan diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Penggunaan alat ini dengan cara: pertama alat dipanaskan terlebih dahulu selama kurang lebih 10 menit, timbang 2 g serbuk yang akan diuji ke atas wadah aluminium secara merata. Kedua atur temperatur alat pada suhu 100⁰ C lalu alat dinyalakan tunggu sampai alat selesai membaca susut pengeringan yang terakhir catat nilai yang terbaca pada alat.

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk daun kamboja

5.1 Identifikasi saponin. Sebanyak 0,3 g serbuk daun kamboja dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu

dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila berbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Depkes 1977).

5.2 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 g serbuk daun kamboja ditambah 100 ml air panas, didihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas, filtrate diperoleh sebagai larutan sampel, kemudian dimasukkan 5 ml larutan sampel dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCl 2%. Larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I untuk pembanding, tabung reaksi II ditambah 2-4 tetes reagen Dragendorf, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat, tabung reaksi III ditambah 2-4 tetes reagen Mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya endapan putih kekuningan.

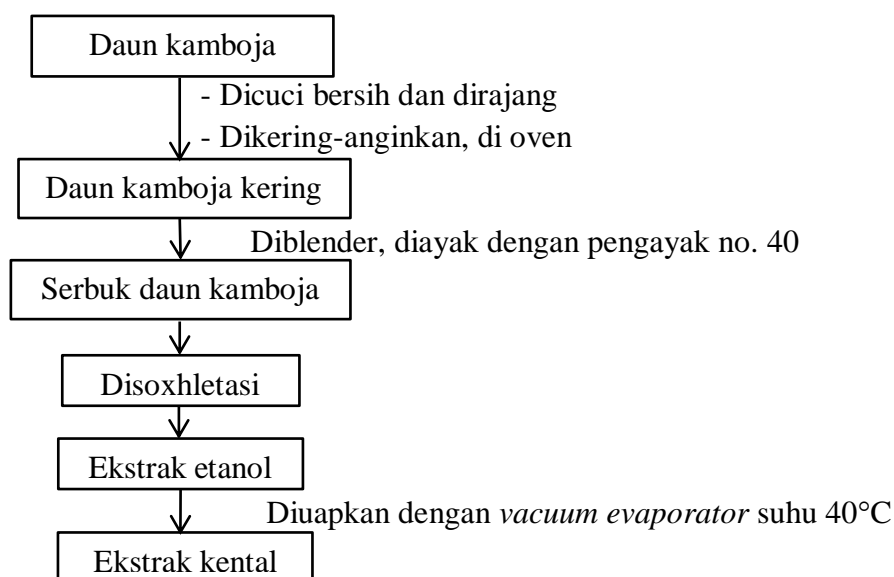
5.3 Identifikasi flavonoid. Serbuk daun kamboja ditambah 100 ml air panas kemudian didihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A (Depkes 1977). Larutan A sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 g serbuk mg, 2 ml larutan alkohol:asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977).

5.4 Identifikasi polifenol. Serbuk sebanyak 100 mg ditambah aquadest 5 ml diaduk dibiarkan sampe temperature kamar, ditambah NaCl 10% dimasuk dan disaring, ke dalam tabung reaksi ditetesi larutan FeCl₃, amati perubahan warna, jika terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa polifenol. (Depkes 1995).

6. Pembuatan ekstrak etanol daun kamboja

Pembuatan ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) dilakukan dengan cara soxhletasi, dimana ditimbang sebanyak 50 g serbuk kemudian dibungkus dengan kertas saring dan kedua ujungnya diikat dengan benang. Sampel kemudian dimasukkan dalam alat soxhletasi. Lalu diisi dengan pelarut etanol 70% sebanyak satu setengah sirkulasi. Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan labu dan dibiarkan sampai beberapa kali hingga larutan dalam tabung soxhletasi bewarna jernih. Kemudian sari dikumpulkan dan diuapkan

menggunakan *vacuum evaporator* pada suhu 40°C sehingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang beratnya menggunakan timbangan analitik, terakhir dihitung rendemen ekstraknya. Skema pembuatan dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Skema pembuatan ekstrak etanol daun kamboja.

7. Penetapan kadar air ekstrak daun kamboja

Metode penetapan kadar air ekstrak daun kamboja dilakukan menggunakan cara destilasi. Caranya dengan ditimbang ekstrak daun kamboja sebanyak 20 g, dimasukkan dalam labu kering, dimasukkan lebih kurang 200 ml xilen jenuh air ke dalam labu, memasang serangkaian alat. Xilen jenuh air dimasukkan dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan secara hati-hati selama 15 menit. Setelah xilen mendidih, penyulingan diatur dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik hingga sebagian besar air tersuling, kemudian dinaikkan kecepatan penyulingan menjadi 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan xilen jenuh air. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, tabung penerima didinginkan hingga suhu ruang. Jika ada tetesan air yang melekat, gosok tabung pendingin dan tabung penerima dengan karet yang diikatkan pada sebuah tembaga dan dibasahi dengan toluen jenuh air hingga tetesan air turun. Dibaca volume setelah air dan xilen

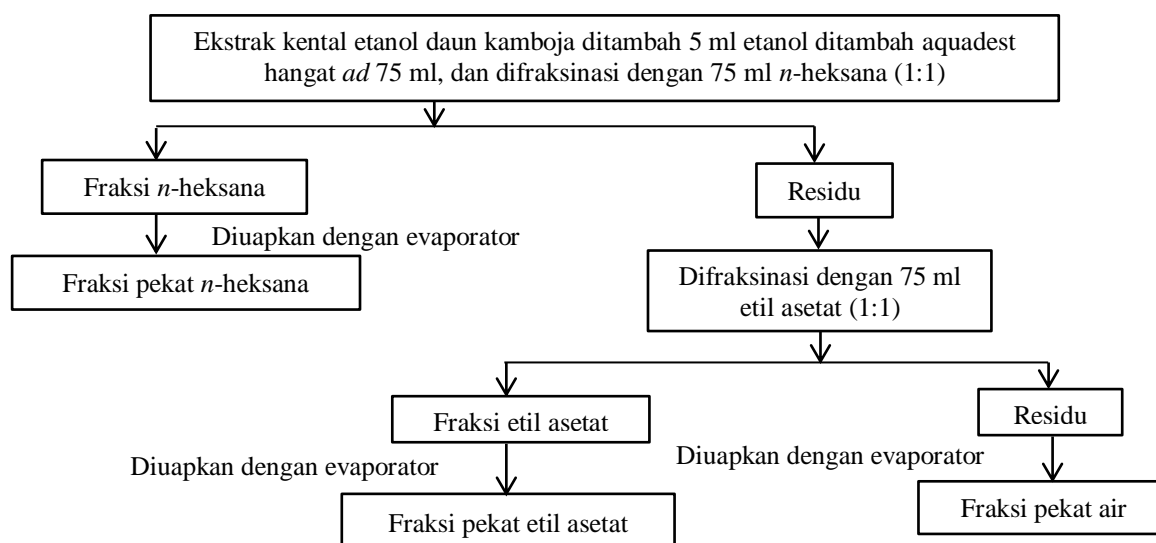
memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam %v/b dan dilakukan 3 kali replikasi (Depkes 2013).

8. Tes bebas etanol

Tes bebas etanol ekstrak daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait) dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak daun kamboja ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak ada etanol lagi (Praeparandi 1978).

9. Fraksinasi ekstrak etanol daun kamboja

Fraksinasi dilakukan dengan cara ditimbang 10 g ekstrak daun kamboja dilarutkan dengan 5 ml etanol sebagai *co-solven* ditambah aquadest hangat sampai 75 ml, difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 ml menggunakan corong pisah. Fraksi *n*-heksana yang didapat, dikumpulkan, dipekatkan dalam oven. Fraksi *n*-heksana yang kental ini disebut fraksi pekat *n*-heksana. Lapisan sisa fraksinasi yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat yang didapat, dikumpulkan, dipekatkan dalam oven. Fraksi etil asetat yang kental ini disebut fraksi pekat etil asetat. Residu hasil partisi dari etil asetat kemudian dikumpulkan dan dipekatkan dalam oven, hasil yang diperoleh disebut sebagai fraksi pekat air.



Gambar 8. Skema pembuatan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air.

10. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun kamboja

10.1 Identifikasi saponin. Ekstrak/fraksi daun kamboja sebanyak 0,3 g dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila berbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Depkes 1977).

10.2 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 0,1 g ekstrak/fraksi daun kamboja ditambah 10 ml air panas, dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas, filtrat diperoleh sebagai larutan sampel, kemudian dimasukkan 5 ml larutan sampel dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCl 2%. Larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I untuk pembandingan, tabung reaksi II ditambah 2-4 tetes reagen Dragendorff, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat, tabung reaksi III ditambah 2-4 tetes reagen Mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya endapan putih kekuningan.

10.3 Identifikasi flavonoid. Ekstrak/fraksi sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 1 ml etanol. Kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg-P dan 10 tetes HCl pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (Fansworth 1996).

10.4 Identifikasi polifenol. Ekstrak/fraksi sebanyak 100 mg ditambah aquadest 5 ml diaduk dibiarkan sampai temperature kamar, ditambah NaCl 10% diasuk dan disaring, ke dalam tabung reaksi ditetesi larutan $FeCl_3$, amati perubahan warna, jika terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa polifenol. (Depkes 1995).

11. Penetasan telur *Aedes aegypti*

Penetasan telur dimulai dengan menaruh telur pada wadah atau nampan berisi air hingga kertas yang berisi telur nyamuk terendam seluruhnya, setelah 24 jam telur akan menetas dan tumbuh menjadi larva instar I. larva instar I akan mengalami tahap perkembangan menjadi larva instar II, dan III ($\pm 3-5$ hari). Larva diberi makan tiap 2 hari sekali. Setelah hari ketiga dilihat ciri-cirinya untuk memastikan bahwa larva telah tumbuh mencapai instar III.

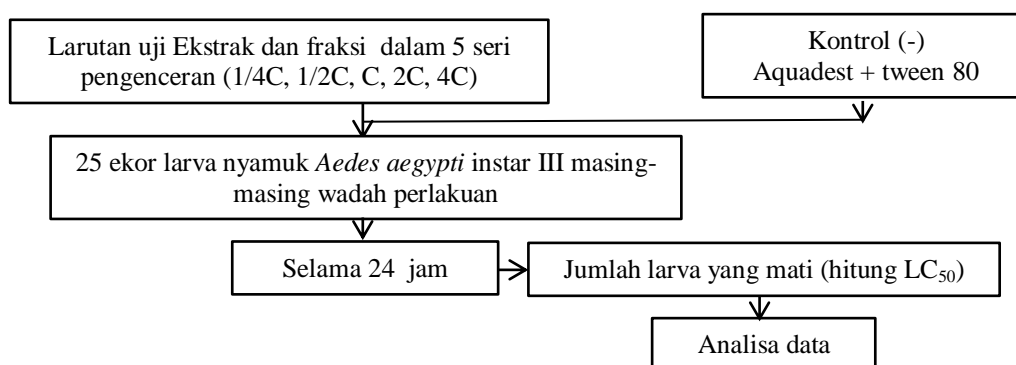
12. Preparasi larutan induk dan sampel larutan uji

Ekstrak dan fraksi 0,1 g, disuspensikan dalam 100 ml aquadestilata yang ditambahkan tween 80 untuk memudahkan homogen dalam air disebut sebagai larutan induk. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan menjadi lima seri konsentrasi (C) (1/4C, 1/2C, 1C, 2C, dan 4C) dalam labu takar 100 ml dengan penambahan larutan aquadest hingga tanda batas, larutan ini disebut larutan uji.

13. Uji aktivitas larvasida

Larutan uji dimasukkan dalam wadah sesuai dengan seri konsentrasi dan dimasukkan 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, kemudian dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam larva kontak dengan larutan uji. Percobaan ini dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi.

Kontrol negatif digunakan tween 80 ditambah aquadest 100 ml. Selanjutnya dimasukkan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III dan diamati jumlah larva yang mati setelah 24 jam perlakuan. Menghitung dan menentukan persen mortalitas larvanya kemudian dicari nilai probit dengan menggunakan tabel konversi untuk menghitung LC_{50} .



Gambar 9. Skema uji aktivitas larvasida.

14. Penetapan LC_{50}

LC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja yang dapat mematikan 50% larva *Aedes aegypti* instar III dalam waktu 24 jam dari saat dimasukkannya larutan uji ke dalam masing-masing wadah plastik dan larva yang telah disiapkan.

Apabila kematian nyamuk pada kontrol negatif antara 5-20% maka kematian sesungguhnya dikoreksi menggunakan rumus Abbot sebagai berikut (Suwasono *et al* 2004) :

$$A1 = \frac{A - B}{100 - B} \times 100\%$$

Keterangan :

- A1 = Persentase kematian setelah koreksi
- A = Persentase kematian nyamuk uji
- B = Persentase kematian nyamuk kontrol

Persen kematian larva tersebut kemudian dicari nilai probitnya dengan menggunakan tabel konversi, setelah diketahui nilai probit untuk tiap konsentrasi, kemudian dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) yang merupakan hubungan linear dengan persamaan garis lurus $y=a+bx$ dengan memasukkan nilai probit 5 dari 50% kematian hewan uji sebagai y, maka akan didapatkan antilog x sebagai harga LC_{50} .

15. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisa dengan metode analisis probit untuk mendapatkan harga LC_{50} . Jumlah larva yang mati dihitung dan dimasukkan dalam tabel. Data-data hasil yang telah dikelompokkan, diuji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, jika hasil normal maka dilanjutkan dengan uji Parametrik dengan menggunakan ANOVA. Kemudian dilanjutkan ke uji *Levene* yang digunakan untuk mengetahui homogenitas varian, dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* dan uji *Tukey*. Jika hasil uji normalitasnya tidak normal maka di lanjutkan dengan uji Non Parametrik menggunakan uji *Kruskall Wallis*, setelah itu di lanjutkan dengan uji Mann Whitney. Pengolahan data menggunakan fasilitas SPSS 17 *for Windows*.

16. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun kamboja dengan KLT

Identifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui isi kandungan senyawa kimia dan menetapkan kebenaran yang terdapat pada ekstrak etanol daun kamboja dan masing-masing fraksinya.

Senyawa yang diidentifikasi anatara lain adalah saponin, flavonoid, alkaloid, polifenol. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan pada pelat berupa bercak. Setelah pelat ditotolkan, ditaruh dalam bejana tertutup rapat dengan fase gerak. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Hasil pemeriksaan yang diperoleh diidentifikasi dibawah sinar UV (254 dan 366 nm) ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi.

Sejumlah ekstrak dan ketiga fraksi daun kamboja masing-masing ditimbang dan dilarutkan. Fase diam yang digunakan adalah silica gel 60 F254, sedangkan fase gerak dan penampak noda yang digunakan sebagai berikut:

16.1 Identifikasi saponin. Fase gerak: kloroform:methanol:air (6:3:1). Penampak noda: Lieberman Burchard menghasilkan warna coklat gelap, kekuningan. Sedangkan pada UV 254 nm menjadi warna gelap dan UV 366 nm terjadi warna kuning (Harbone 1987).

16.2 Identifikasi flavonoid. Fase gerak: heksan:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2). Penampak noda: uap sitroborat. Jika timbul warna kuning pudar, sedangkan pada UV 254 nm terjadi fluoresensi biru gelap dan UV 366 nm terjadi fluoresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987).

16.3 Identifikasi alkaloid. Fase gerak: toluene:etil asetat:dietil amin (7:2:1). Penampak noda: pereaksi dragendroff. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi Dragendroff menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia, dibawah sinar UV 366 nm, alkaloid akan berfluoresensi biru, biru-hijau atau ungu (Depkes 1989).

16.4 Identifikasi polifenol. Fase gerak: kloroform:etil asetat:asam formiat (0,5:9:0,5). Penampak noda: FeCl_3 10%. Jika timbul warna hitam setelah penyemprotan FeCl_3 10% menunjukkan adanya senyawa polifenol dalam totalan (Marliana 2007).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Kamboja

1. Determinasi tanaman

1.1 Hasil determinasi tanaman kamboja. Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan pada suatu penelitian yang menggunakan sampel berupa tanaman. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, mencocokkan ciri morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi dan menghindari kesalahan pengumpulan bahan. Determinasi dilakukan menurut pustaka Steenis *et al* (1978). Hasil determinasi berdasarkan : Steenis *et al* (1978) : *FLORA of java*

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a. golongan 8. 100b - 119b - 120a - 121b - 124b - 125a - 126b - 127b. familia 105 Apocynaceae. 1a - 2b. 1. *Plumeria*. ***Plumeria acuminata* Ait.**

1.2 Deskripsi tanaman. Habitus tanaman kamboja berupa pohon, kecil, tinggi dapat mencapai 6 meter. Batang tanaman kamboja berbentuk percabangan monopodial, berkayu, dan bergetah. Daun tanaman kamboja berbentuk tunggal, bentuk lanset, ujuang meruncing, pangkal meruncing, tepi rata, tulang daun menyirip, dan hijau. Bunga berbentuk mulai rata, berbau harum; kelopak kecil; mahkota berbentuk corong, daun mahkota 5, tabung sempit, sisi dalam agak kuning, selanjutnya putih atau merah, tumpul, lebar 1,5-2,5 cm; bakal buah 2, lepas; tangkai putik pendek; dasar bunga menonjol menutupi tabung kelopak; kepala putik berlekuk 2. Buah tanaman kamboja berbentuk bumbung 1 atau 2, saling berjauhan, bentuk garis lanset, berbiji banyak. Biji tanaman kamboja berbentuk kecil dan bersayap. Akar tanaman kamboja berbentuk tunggang.

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun kamboja (*Plumeria acuminata* W.T. Ait). Lampiran 1 menunjukkan hasil determinasi tanaman kamboja.

2. Hasil pengumpulan bahan

2.1 Hasil pemilihan daun kamboja. Daun kamboja yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Wonogiri dalam keadaan masih segar pada bulan Agustus 2017 secara acak. Daun kamboja diambil yang berwarna hijau dan segar, kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau zat lain yang tidak dibutuhkan.

2.2 Pembuatan serbuk daun kamboja. Pembuatan serbuk daun kamboja dengan cara daun dikeringkan dalam oven pada suhu 45°C selama 7 hari, lalu diserbuk dengan mesin penggiling untuk memperkecil ukuran partikel. Serbuk diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen. Penyerbukan bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

Serbuk daun kamboja berwarna coklat tua dibuat dari bobot basah 3900 gram. Daun kamboja yang telah dikeringkan diperoleh bobot 860 gram, rendemen yang diperoleh adalah 22,05%. Tabel 1 menunjukkan hasil rendemen pengeringan daun kamboja. Lampiran 8 menunjukkan hasil perhitungan rendemen pengeringan daun kamboja.

Tabel 1. Rendemen pengeringan daun kamboja

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
3900	860	22,05

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun kamboja

Kadar lembab serbuk daun kamboja diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui kandungan lembab daun kamboja yang berpengaruh terhadap kualitas serbuk. Jika kadar lembab tinggi dapat memudahkan tumbuhnya jamur dan organisme aerob lainnya. Kadar lembab untuk serbuk yang baik adalah tidak lebih dari 10% (Depkes 1986). Tabel 2 menunjukkan hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun kamboja.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun kamboja

Berat (gram)	Kandungan lembab serbuk (%)
2,0	8,5
2,0	8,5
2,0	8,5
Rata-rata	8,5

Hasil penentuan kadar lembab serbuk daun kamboja didapatkan rata-rata sebesar 8,5%. Kadar lembab akan mempengaruhi kadar air, selama penyimpanan, kadar air bertambah jika kelembaban udara sekitar cukup tinggi. Selain itu, lama penyimpanan dan suhu ruangan juga berpengaruh pada tinggi rendahnya kadar air. Apabila kadar air bahan cukup tinggi maka sebagian akan berubah menjadi gas kemudian masuk ke dalam udara sebagai uap air (Arizka 2015). Penetapan kadar lembab dari simplisia perlu dilakukan mengingat air merupakan media tumbuhnya jamur, kapang, dan mikroorganisme yang lain yang dapat merusak simplisia. Reaksi enzimatik dengan adanya air menurunkan mutu serbuk.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kamboja

Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode ekstraksi yakni soxhletasi. Tabel 3 menunjukkan hasil rendemen ekstrak etanol daun kamboja.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun kamboja

Serbuk daun kamboja (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
300	89,1218	29,70

Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kamboja pada tabel 3 menggunakan cara soxhletasi, terhadap 300 g serbuk dengan pelarut etanol 70%, didapatkan ekstrak kental 89,1218 g sehingga diperoleh rendemen 29,70%. Pemilihan konsentrasi pelarut etanol 70% dikarenakan etanol 70% lebih bersifat polar dibandingkan pelarut etanol 96% atau etanol 95%, untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid dan alkaloid yang bersifat polar maka digunakan pelarut yang bersifat polar yakni etanol 70%. Ekstrak kental yang didapat kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air dimaksudkan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Lampiran 9 menunjukkan hasil perhitungan rendemen ekstrak daun kamboja.

5. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja

Ekstrak etanol yang diperoleh ditetapkan kadar air dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylene karena xylene memiliki titik didih dan berat jenis yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Penetapan kadar air ekstrak daun kamboja dimaksudkan agar mutu dan khasiat tetap terjaga. Selain itu, kadar air ekstrak

dibawa persyaratan kadar air ekstrak dapat mencegah tumbuhnya jamur dan kapang. Persyaratan kadar air ekstrak kental yaitu antara 5-30% (Voigt 1994).

Tabel 4 menunjukkan hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja

No.	Berat ekstrak (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	10	1,6	16
2	10	1,7	17
3	10	1,6	16
Rata-rata ± SD			16,3 ± 0,577

Dari hasil penetapan kadar air ekstrak daun kamboja diperoleh kadar air ekstrak sebesar $16,3 \pm 0,577\%$. Kadar air ekstrak masih dalam batas normal menurut voight (1994) yaitu antara 5-30%. Lampiran 10 menunjukkan perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun kamboja.

6. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun kamboja

Tes bebas etanol ekstrak daun kamboja dilakukan dengan cara esterifikasi etanol. Tujuan dari tes ini adalah untuk memastikan bahwa selama proses penguapan tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada karena dapat mempengaruhi hasil penelitian. Tabel 5 menunjukkan hasil pengujian bebas etanol.

Tabel 5. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun kamboja

Prosedur	Hasil pengamatan	Pustaka
Ekstrak + asam sulfat pekat + asam asetat, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas (bebas etanol)	Tidak tercium bau ester yang khas dari ekstrak, bau harum

Hasil pengujian bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun kamboja sudah bebas dari etanol, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester (bau harum) yang khas dari etanol.

7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kamboja

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam serbuk daun kamboja. Uji identifikasi dilakukan pada senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol. Tabel 6 menunjukkan hasil kandungan kimia serbuk daun kamboja dengan uji warna.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam serbuk dan ekstrak daun kamboja dengan pereaksi warna

Kandungan Kimia	Prosedur	Hasil	Pustaka	Ket Serbuk	Ket Ekstrak
Flavonoid	Filtrat serbuk/ekstrak + serbuk Mg + larutan etanol : HCl (1:1) + amil alkohol	Terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol	Merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977)	+	+
Saponin	Filtrat serbuk/ekstrak + air panas + kocok kuat + terbentuk buih + 1 tetes HCl 2%	Terbentuk buih yang mantap setinggi 1 cm ditambah HCl 2N buih tidak hilang	Terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm ditambah HCL 2N buih tidak hilang (Depkes 1977)	+	+
Alkaloid	Filtrat serbuk/ekstrak + HCl 2% dibagi dalam 3 tabung, Tabung I pembanding, Tabung II + reagen dragendorf Tabung III + reagen mayer	Terbentuk endapan coklat pada tabung II dan endapan putih kekuningan pada tabung III Terbentuk warna hijau kehitaman	Adanya kekeruhan atau endapan coklat pada tabung II dan adanya endapan putih kekuningan pada tabung III (Depkes 1977)	+	+
Polifenol	Filtrat serbuk/ekstrak + NaCl 10% + FeCl ₃		Adanya senyawa polifenol terbentuk warna hijau kehitaman (Depkes 1995)	+	+

Keterangan : (+) = Terbentuk perubahan

(-) = Tidak terbentuk perubahan

Berdasarkan tabel 6, terbukti serbuk dan ekstrak daun kamboja mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol dengan menggunakan uji warna. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Choudhary *et al* (2014), tanaman kamboja memiliki senyawa steroid, flavonoid, tanin, alkaloid, dan glikosida, dan penelitian Gunawan *et al* (2010) menyebutkan bahwa kandungan kimia ekstrak daun kamboja diantaranya alkaloid, saponin, flavonoid, dan senyawa polifenol. Lampiran 7 menunjukkan hasil identifikasi senyawa menggunakan uji warna.

8. Hasil fraksinasi ekstrak daun kamboja

Ekstrak daun kamboja dilakukan fraksinasi, tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan perbedaan polaritasnya. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi adalah *n*-heksana, etil asetat, dan air. *n*-Heksana merupakan pelarut yang bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semipolar, dan air bersifat polar. Ekstrak ditimbang 10 g kemudian dilarutkan dengan etanol

5% dari air, setelah larut semua ditambahkan air ad 75 ml, ditambah 75 ml *n*-heksana, dan dilakukan penggojokan, sesekali corong pisah dibuka untuk mengeluarkan gas. Residu dari *n*-heksana kemudian dilanjutkan kembali dengan menggunakan etil asetat. Fraksinasi dilakukan sebanyak 4 kali agar senyawa yang terkandung dalam ekstrak dapat benar-benar tertarik dalam pelarut. Untuk mengecek apakah masih ada senyawa atau tidak (fraksinasi sempurna) maka perlu dilakukan KLT untuk pengecekan, namun praktikan tidak melakukannya. Hasil fraksinasi *n*-heksana dan etil asetat berada di atas, hal ini dikarenakan kedua pelarut tersebut memiliki berat jenis yang lebih kecil dibandingkan dengan air. Tabel 7 menunjukkan hasil rendemen fraksinasi daun kamboja.

Tabel 7. Hasil rendemen fraksinasi ekstrak daun kamboja

Nama Pelarut	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Persen rendemen (%)
<i>n</i> - heksan	20	4,1663	20,83
Etil asetat		1,2436	6,22
Air		10,7937	53,97

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan rendemen yang didapat pada setiap pelarut berbeda karena perbedaan kemampuan dari pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kamboja. Rendemen fraksi air lebih besar dibandingkan fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat, sedangkan fraksi *n*-heksana lebih besar dibandingkan fraksi etil asetat. Persen rendemen dari 100% sisa 18,98% atau sekitar 3,7 g bobot fraksi hilang mungkin disebabkan terbuang karena pada saat penggojokan pelarut *n*-heksana dan air terdapat emulsi, sehingga dianggap pengotor oleh praktikan atau mungkin terbuang sewaktu memindahkan ekstrak dari cawan ke beker untuk dilarutkan. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun kamboja paling banyak senyawa polarnya dan paling sedikit kandungan semi polarnya. Organoleptis fraksi *n*-heksana berwarna kehijauan, fraksi etil asetat berwarna coklat kekuningan, dan fraksi air berwarna coklat. Lampiran 11 menunjukkan perhitungan rendemen fraksinasi.

9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi daun kamboja

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam serbuk daun kamboja. Uji identifikasi dilakukan pada senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol. Tabel 8 menunjukkan hasil kandungan kimia serbuk daun kamboja dengan uji warna.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam fraksi daun kamboja dengan uji warna

Senyawa	Identifikasi	Hasil		Keterangan		
		Pengamatan	Pustaka	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	Filtrat fraksi + serbuk Mg + larutan etanol : HCl (1:1) + amil alcohol	Larutan berwarna kuning, kuning, merah pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif bila timbul + warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol (Depkes 1978)	(+)	(+)	(+)
Saponin	Filtrat fraksi + air panas + kocok kuat + terbentuk buih + 1 tetes HCl 2%	Terbentuk buih, bila ditetesi HCl tidak hilang	Terdapat busa yang mantap setinggi 1-5cm + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit (Depkes 1978)	(+)	(-)	(-)
Alkaloid	Filtrat fraksi + HCl 2% dibagi dalam 3 tabung, Tabung I pembanding, Tabung II + reagen dragendorf Tabung III + reagen mayer	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna coklat hitam dan ada endapan kuning	Adanya kekeruhan atau endapan coklat pada tabung II dan adanya endapan putih kekuningan pada tabung III (Depkes 1977)	(-)	(+)	(+)
Polifenol	Filtrat fraksi + NaCl 10% + FeCl ₃	Terbentuk larutan hijau kehitaman	Adanya senyawa polifenol terbentuk warna hijau kehitaman (Depkes 1995)	(-)	(+)	(+)

Keterangan : (+) = Terbentuk perubahan

(-) = Tidak terbentuk perubahan

Berdasarkan tabel di atas, fraksi *n*-heksana mengandung saponin dan flavonoid, saponin dan flavonoid yang tertarik dalam *n*-heksana mengandung flavonoid dan saponin bersifat nonpolar sehingga akan tertarik pada pelarut nonpolar.

Fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan polifenol, flavonoid yang tertarik pada etil asetat mengandung flavonoid non polar sehingga sedikit tertarik pada pelarut semi polar sedangkan polifenol yang tertarik pada etil asetat mengandung polifenol semipolar sehingga tertarik pada pelarut yang bukan polar.

Fraksi air mengandung flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Flavonoid, alkaloid, dan polifenol yang tertarik pada air mengandung flavonoid, alkaloid, dan polifenol bersifat polar, sehingga akan tertarik pada pelarut polar. Lampiran 7

menunjukkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi daun kamboja dengan uji warna.

10. Hasil KLT ekstrak dan fraksi daun kamboja

Analisis kualitatif dilakukan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kamboja. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kamboja. Identifikasi KLT ini menggunakan fase diam silika gel 60 GF₂₅₄. Lampiran 18 menunjukkan hasil KLT ekstrak dan fraksi daun kamboja.

Tabel 9. Hasil Identifikasi KLT

	Hasil Rf							
	Saponin		Alkaloid		Flavonoid		Polifenol	
	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366
Baku	0,8	0,8	-	-	0,36	0,36	-	-
Ekstrak	0,8	0,8	0,74	0,74	0,4	0,4	0,74	0,74
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,8	0,8	0,76	0,76	0,4	0,4	-	-
Fraksi etil asetat	0,8	0,8	0,73	0,73	0,36	0,36	0,74	0,74
Fraksi air	0,8	0,8	0,7	0,7	0,2	0,2	0,74	0,74

Hasil KLT menunjukkan Rf yang sama dimana mungkin proses fraksinasi waktu penggojokan belum begitu sempurna sehingga nampak toton dengan Rf yang sama pada masing-masing fraksi. Karena KLT sangat sensitive sehingga senyawa akan tampak walaupun hanya sedikit kadarnya dan mungkin dikarenakan penotolan yang kurang bagus sehingga tampak sangat tailing sehingga berasumsi bahwa memiliki Rf sama, penggunaan fase gerak yang salah juga mempengaruhi hasil KLT dimana bercak tampak Rf sangat tinggi.

Analisis flavonoid akan timbul warna kuning pudar setelah disemprot pereaksi penampak bercak Sitroborat (Harborne 1987). Hasil uji KLT pada fraksi timbul warna biru pada UV 366, warna biru tampak pada UV 254. Warna kuning pudar pada sinar tampak setelah disemprot uap sitroborat. Pada ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terlihat warna kuning pudar setelah disemprot dengan sitroborat. Hasil ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Identifikasi selanjutnya yang dilakukan pada uji analisis KLT ini yakni mengidentifikasi kandungan senyawa polifenol. Berdasarkan pustaka Merliana (2007) polifenol akan memberikan bercak warna biru atau ungu kehitaman jika disemprotkan dengan pereaksi FeCl₃. Hasil uji KLT didapatkan timbul warna biru

pada UV 366, timbul warna biru pada UV 254, dan timbul warna kehitaman pada sinar tampak setelah disemprot dengan FeCl_3 . Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air mengandung senyawa polifenol setelah disemprot dengan FeCl_3 bewarna hitam. Warna hitam terjadi karena reaksi antara FeCl_3 dengan gugus hidroksil dari polifenol.

Analisis uji alkaloid menurut pustaka Depkes (1989) akan timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan dengan pereaksi Dragendroff. Hasil uji KLT pada UV 366 dan 254 tidak menunjukkan spesifikasi senyawa saponin karena hasil tolotan terlalu tailing, namun timbul warna coklat pada sinar tampak setelah disemprot dengan *Dragendrof* pada ekstrak dan fraksi air. Hasil ini menunjukkan bahwa tolotan mengandung senyawa alkaloid.

Uji analisis senyawa saponin menurut teori akan memberikan bercak warna coklat, violet, sampai biru kehijauan setelah disemprot pereaksi penampak bercak *Liebermann-Burchard* (Harbone 1987). Hasil uji KLT pada UV 366 dan 254 tidak menunjukkan spesifikasi senyawa saponin karena hasil tolotan terlalu tailing, namun timbul warna coklat pada sinar tampak setelah disemprot dengan *Liebermann-Burchard* pada fraksi *n*-heksana. Hasil ini menunjukkan bahwa tolotan mengandung senyawa saponin.

B. Hasil Uji Larvasida Daun Kamboja

1. Hasil preparasi sampel

Preparasi larutan uji dari ekstrak dan fraksi daun kamboja dibuat larutan stok 1000 ppm terlebih dahulu, kemudian dibuat 5 seri konsentrasi. Larutan stok dibuat dengan mencampurkan 100 mg ekstrak/fraksi dengan tween 1 ml ke dalam 100 ml aquadestilata dalam labu takar. Tween berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan antara ekstrak/fraksi dengan aquadestilata sehingga mempermudah untuk proses pencampuran. Pembuatan larutan uji dengan mengambil beberapa volume dari larutan stok kemudian diencerkan dengan aquadestilata sampai 50 ml tanpa penambahan tween. Konsentrasi larutan uji yang digunakan untuk uji larvasida adalah 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, dan 62,5 ppm. Kontrol negatif yang digunakan adalah tween 80 1 ml dicampur

dengan aquadestilata. Tabel 10 menunjukkan hasil preparasi larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Tabel 10. Hasil preparasi larutan uji ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja

Konsentrasi larutan uji (ppm)	Volume pipet larutan stok (ml)	Volume larutan uji (ml)
1000	50	50
500	25	50
250	12,5	50
125	6,25	50
62,5	3,125	50

Berdasarkan tabel 10 volume pengambilan larutan stok yaitu 50 ml, 25 ml, 12,5 ml, 6,25 ml, dan 3,125 ml di encerkan menggunakan aquadestilata dalam labu takar 50 ml untuk mencapai konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, dan 62,5 ppm. Lampiran 12 menunjukkan perhitungan pengambilan larutan stok.

2. Hasil uji aktivitas larvasida

Uji larvasida ini menggunakan larva nyamuk instar III. Pemilihan ini didasarkan pada fungsi dan bentuk organ yang hampir sempurna sebelum berubah menjadi instar IV yaitu spira pada sisi thorak sudah jelas, sifon sudah berukuran besar dan lebih kuat terhadap racun daripada instar yang lebih kecil. Larva instar IV mengalami masa istirahat atau puasa sebelum menjadi pupa. Racun larvasida masuk ke dalam tubuh larva melalui saluran pencernaan sehingga uji aktivitas larvasida pupa yang tidak makan menjadi tidak efektif. Uji aktivitas larvasida dilakukan dengan tiap gelas uji diisi sebanyak 25 ekor larva dan masing-masing uji dilakukan tiga kali replikasi pada ekstrak dan fraksi daun kamboja. Tabel 11 menunjukkan % kematian larva *Aedes aegypti* setelah perlakuan.

Tabel 11. Hasil uji aktivitas larvasida

Konsentrasi	% kematian larva selama 24 jam											
	Ekstrak			Fraksi <i>n</i> -heksana			Fraksi etil asetat			Fraksi air		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1000	60	56	64	64	72	60	80	84	84	44	40	44
500	44	48	44	48	60	52	72	72	68	36	36	32
250	36	28	32	36	36	40	56	52	60	28	28	28
125	20	24	20	28	28	24	36	32	32	24	20	16
62,5	16	12	8	20	16	16	20	24	16	16	16	12
K(-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan : Kontrol (-) : Aquadestilata + Tween

Hasil uji aktivitas larvasida menunjukkan hubungan konsentrasi dan kematian larva nyamuk berbanding lurus, yaitu semakin besar konsentrasi larutan uji maka jumlah larva yang mati semakin banyak. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi-fraksi daun kamboja dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Larva yang akan mati ditandai dengan terjadi kekejangan pada tubuh larva dan bergerak lambat serta hanya berputar-putar ditempat tidak bergerak dengan aktif. Larva yang mati adalah larva yang berada pada posisi tenggelam atau melayang, bila disentuh dengan lidi larva tidak bergerak berarti larva sudah mati. Larva yang masih hidup bila disentuh dengan lidi akan langsung bergerak ke depan dan langsung bergerak aktif.

Berdasarkan hasil uji larvasida tersebut terlihat bahwa fraksi etil asetat mampu membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* lebih banyak dari pada fraksi air, ekstrak, dan fraksi *n*-heksana. Kontrol negatif menunjukkan tidak mempunyai aktivitas larvasida karena tidak membunuh larva (tidak berpengaruh terhadap kematian larva). Hal ini menunjukkan bahwa tween 80 tidak mempengaruhi aktivitas larvasida pada larutan uji.

3. Hasil penetapan LC₅₀

Penentuan nilai LC₅₀ dilakukan untuk menentukan konsentrasi dari masing-masing ekstrak dan fraksi daun kamboja yang dapat mematikan 50% larva *Aedes aegypti* dalam waktu 24 jam. Penetapan LC₅₀ dihitung dengan kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) yang merupakan hubungan linier dengan persamaan garis lurus $y = a+bx$, dengan memasukkan nilai probit=5, dari 50% kematian hewan uji sebagai y, maka akan didapat nilai x, dan diantilog x sebagai harga LC₅₀. Dari perhitungan LC₅₀ masing-masing replikasi kemudian dihitung rata-rata LC₅₀. Lampiran 13-16 menunjukkan perhitungan penetapan LC₅₀ ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan menggunakan analisis probit. Tabel 12 menunjukkan hasil rata-rata nilai LC₅₀.

Tabel 12. Hasil penetapan LC₅₀

Perlakuan	Replikasi			Rata-rata (ppm) LC ₅₀ ± SD
	I	II	III	
Ekstrak	630,960	660,693	575,440	622,364±43,271
Fraksi <i>n</i> -heksana	501,187	371,535	501,187	457,969±74,85
Fraksi Etil asetat	223,872	218,776	234,423	225,690±7,90
Fraksi air	1659,587	2089,296	1513,561	1754,184±299,28

Uji lanjutan setelah analisis probit, yaitu dilanjutkan uji statistik *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat data LC₅₀ terdistribusi normal atau tidak. Melalui uji statistik *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh, data LC₅₀ di atas terdistribusi normal (signifikansi = 0,182 > 0,05), sehingga dapat dilanjutkan ke uji statistik *Anova One Way*. Uji homogenitas menunjukkan tidak ada perbedaan variasi (Sig = 0,011 ≤ 0,05) sehingga tidak dapat dilanjutkan uji anova karena tidak memenuhi persyaratan uji anova. Uji dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis* diperoleh signifikansi = 0,015 ≤ 0,05, maka data tersebut tidak terdistribusi normal. Uji dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, diperoleh hasil ada perbedaan tiap-tiap perlakuan yang diujikan. Lampiran 17 menunjukkan hasil dari statistik spss 17 for Windows.

Hasil perhitungan LC₅₀ menunjukkan fraksi etil asetat mempunyai nilai terkecil (225,690±7,90 ppm) dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana (457,969±74,85 ppm), ekstrak (622,364±43,271 ppm), dan fraksi air (1754,184±299,28 ppm), artinya fraksi etil asetat memiliki daya bunuh yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air. LC₅₀ (225,690±7,90 ppm) fraksi etil asetat dibandingkan LC₅₀ (0,56 ppm) abate (Utami 2011), dinyatakan efek larvasida fraksi etil asetat jauh lebih rendah dibanding dengan abate.

Menurut Wagner *et al* (1993) kategori toksisitas berdasar LC₅₀ dikatakan racun tinggi apabila LC₅₀ kurang dari 1 ppm, racun sedang apabila LC₅₀ 1-100 ppm, dan racun rendah apabila tinggi apabila LC₅₀ lebih dari 100 ppm. Menurut klasifikasi tersebut dapat dinyatakan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dikatakan racun rendah atau tidak toksik tetapi dapat membunuh larva.

Penelitian terbaru terbukti senyawa seperti saponin, steroid, isoflavon, minyak esensial, alkaloid, dan tannin memiliki potensi sebagai larvasida (Shivakumar *et al* 2013). Kematian larva pada fraksi etil asetat diduga karena adanya senyawa flavonoid dan polifenol yang dibuktikan pada uji warna pada fraksi etil asetat. Senyawa flavonoid dan polifenol pada fraksi etil asetat diduga mengandung aglikon sehingga tertarik pada pelarut nonpolar. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat bekerja sinergis sebagai larvasida.

Kematian larva pada fraksi air diduga karena adanya senyawa flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Namun, memiliki LC_{50} yang tinggi, hal ini mungkin terjadi bila senyawa mengandung glikon pada flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Sehingga tidak begitu mematikan banyak larva, mungkin karena adanya banyak glikon pada senyawa secara tidak langsung memberikan makanan bagi larva daripada membunuhnya.

Senyawa yang terdeteksi yaitu flavonoid, alkaloid, polifenol, dan saponin memiliki mekanisme masing-masing dalam membunuh larva. Saponin diketahui memiliki berbagai sifat biologis. Memiliki mekanisme merusak permeabilitas membrane, hemolitik, antioksidan antiinflamasi, imunostimulan, dan antikarsinogen, mempengaruhi asupan makan dan pertumbuhan serta reproduksi pada hewan dan dapat digunakan untuk fungisida, moluskisida, dan pestisida. Saponin meningkatkan tingkat kematian, menurunkan asupan makan, penurunan berat badan, keterbelakangan dalam perkembangan dan penurunan produksi serangga hama. Saponin bisa membuat makanan kurang menarik untuk dimakan (repellent/sebagai detergen) menanggung masalah pencernaan karena kecacatan moulting atau memiliki efek toksik pada sel. Selain itu, saponin bebas larut dan bisa diekstraksi di pelarut berair dan organik dan menyerang membrane kutikula larva, yang akhirnya mengganggu membrane, yang merupakan penyebab utama kematian larva (Chetan *et al* 2005).

Metabolik sekunder polifenol memiliki aktivitas sebagai antifeedant (aktivitas menghambat makan) pada serangga. Fenol mengikat protein, bertindak sebagai agen pengendapan nutrisi protein, sehingga mengurangi pencernaan yang

mengakibatkan kematian (Carlos *et al* 2006). Tanin memiliki kemampuan yang besar untuk berinteraksi dengan ion logam dan makromolekul dan membentuk kompleks larut dengan donor elektron kelompok seperti yang ditemukan dalam alkaloid dan protein. Itu mungkin salah satu alasannya menjelaskan toksisitas terhadap organisme yang berbeda, termasuk serangga, jamur, dan bakteri.

Alkaloid bertindak sebagai larvasida nyamuk potensial dengan lokasi target tertentu kontrol populasi nyamuk. Sebagai contoh alkaloid pellitorine menyebabkan respon degenerative pada organel sel dari torak, daerah midgut, dan dubur menargetkan system osmoregulasi (Perumalsamy *et al* 2013). Mekanisme alkaloid pada vektor serangga bervariasi oleh struktur molekul tetapi terutama dilaporkan menghambat asetilkolinesterase. Penghambatan asetilkoline adalah gangguan fisik karena berfungsi sebagai enzim utama untuk penghentian transmisi impuls syaraf melalui jalu sinaptik yang menyebabkan menurunnya koordinasi otot, konvulsi, gagal nafas, dan kematian (Hadi *et al* 2012, Ahbirami *et al* 2014).

Flavonoid memiliki aktivitas biologi seperti induksi GSE (*Glutathion S-transferase*), menghambat pertumbuhan larva, dan antitumor (Attawy 1994). Senyawa flavonoid memiliki mekanisme sebagai racun pernapasan dengan menghambat enzim pernapasan antara NAD⁺ (koenzim yang terlibat dalam oksidasi dan reduksi pada proses metabolisme) dan koenzim Q (koenzim pernapasan yang bertanggungjawab membawa elektron pada rantai transportasi elektron) sehingga mengakibatkan terjadinya kegagalan fungsi pernapasan (Wirawan 2006). Flavonoid merupakan kandidat untuk biopestisida, flavonoid dapat menurunkan berat badan larva dan kematian larva (Mierziak *et al* 2014).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja mempunyai aktivitas larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang dibuktikan dengan adanya kematian larva setelah perlakuan.

Kedua, fraksi etil asetat daun kamboja mempunyai aktivitas larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Ketiga, LC₅₀ ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kamboja konsentrasi berturut-turut sebesar 622,364 ppm, 457,969 ppm, 225,690 ppm, dan 1754,184 ppm.

B. Saran

Pertama, penggunaan hewan uji lain seperti larva nyamuk *Anopheles* dalam penelien larvasida.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat daun kamboja terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian untuk membuat formulasi sediaan agar memudahkan penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abirahmi R *et al.* 2014. Larvacidal efficacy of different plant parts of railway creeper, *Ipomoea cairica* extract against dengue vector mosquitos, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science* 14: 1-6.
- Adriano *et al.* 2009. Larvacidal activity of *Cladonia substellata* extract and usnic acid against *Aedes aegypti* and *Artemia salina*. *Latin American Journal of Pharmacy* 28(4): 580-4.
- Aminah NS, Sigit S, Partosoedjono S, Chairul. 2001. *S. lerak*, *D. metel* dan *E. prostate* sebagai larvasida *Aedes aegypti*. *Cermin Dunia Kedokteran*: 131.
- Anderson JE, Goetz CM, Laughlin JL. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Natural Product Chemistry*.
- Anilkumar M. 2010. Ethnomedical plants as antiinflammatory and analgesic agents. *Ethnomedicine* 2: 267-293.
- Aradilla AS. 2009. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Larva *Aedes aegypti* [Laporan Akhir Penelitian]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Attawy JA. 1994. *Citrus juice flavonoids with anticarcinogenic and antitumor properties*. In: *Food phytochemicals for cancer prevention*.
- Bassett *et al.* 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: penerbit buku kedokteran EGC. hlm 165-169.
- Cania E, Setyaningrum E. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University* 2: 2337-3776.
- Carlos *et al.* 2006. Natural Compounds as antioxidant and molting inhibitors can play a role as a model for search of new botanical pesticides. *Advances in Phytomedicine* 3: 3.
- Chetan SJ. 2014. Larvacidal activity of some saponin containing plants against the dengue vector *Aedes aegypti*. *TBR An International Peer-Reviewed Journal* 3: 7-8.
- Choudhary M, Kumar V, Singh S. 2014. Phytochemical and Pharmacological Activity of Genus *Plumeria*: an Update Review. *International Journal of Biomedical and Advance Research* 6: 266-271.

- Dalimartha S. 1999. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker*. Jakarta: Penebar Swadana. hlm: 62-63.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1977. *Materia Medika Indonesia*, Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*, Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 7.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*, Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 119-121.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2004. *Tata Laksana Demam Berdarah Dengue di Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2004. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 285-286.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Materia Medika Indonesia*, jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 301-304.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Pemberantasan Sarang Nyamuk Demam Berdarah Dengue (psn dbd)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Suplemen III edisi I. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 10.

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2015. Demam Berdarah Biasanya Mulai Meningkat di Januari. <http://www.depkes.go.id/article/view/15011700003/demam-berdarah-biasanya-mulai-meningkat-di-januari.html> [14 April 1017].
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2016. Wilayah KLB DBD Ada di 11 Provinsi. [Artikel] Dipublikasikan 07 Maret 2016.
- Farnsworth NR. 1996. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3):257-259.
- Farooque AMD, Mazumder A, Shambhawe S, Mazumder R. 2012. Review on *Plumeria acuminata*. *ISSN 2: 2231-2781*.
- Febriyanti M, Sanjaya BW, Supriyantna, Diantini A, Subarnas A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) dengan metode penghambatan reduksi water aoluble tetrazolium salt-1 (WST-1). *Fitofarmaka 2: ISSN: 2087-9164*.
- Florensia IJL, Wahongan GJ, Bernadus JB. 2004. Pengaruh dosis abate terhadap jumlah populasi jentik nyamuk *Aedes spp* di kecamatan Malalayang kota Manado. Manado: Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi.
- Gandahusada *et al.* 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Gaya Baru. hlm 221-224, 236-238.
- Gama ZP, Yanuwadi B, Kurniati TH. 2010. Strategi Pemberantasan Nyamuk Aman Lingkungan: Potensi *Bacillus thuringiensis* Isolat Madura sebagai Musuh Alami Nyamuk *Aedes aegypti*. *ISSN: 2087-3522*.
- Gunawan PW, Ningsih D, Aprilia M. 2010. Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) pada Kulit Kelinci yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Farmasi Indonesia 2: 73-77*.
- Hadi UK, Soviana S. 2002. *Ektoparasit: Pengenalan, Diagnosis, dan Pengendaliannya*. Bogor: Laboratorium Entomologi bagian Parasitologi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Sudiro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. hlm 70-76, 103,106.

- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia Penuntunan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro Edisi II. Bandung: ITB.
- Jirakanjanakit N, Dujardin JP. 2005. *Discrimination of Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Laboratory Lines Based on Wing Geometry. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 36: 858-861.
- Kamble SM, Ohol RR, Koparkar AD. 2012. Acute toxicity of dimecron concentration on mortality and behavior of freshwater fish barilus bendelisis from river Godavari nanded. *Int Indexed and Reffered Journal* 3:86-89.
- Kardinan A. 2003. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Khausik R, Saini P. 2009. Screening of some semi-arid region plants for larvacidal activity against *Aedes aegypti* mosquitoes. *J Vector Borne Dis* 46: 244-246.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Buletin Jendela Epidemiologi: Pusat Data dan Surveilens Epidemiologi Demam Berdarah Dengue*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) dalam Pengendalian Vektor*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. hlm 9-12.
- Marliana E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll&Moritzi) benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA* 1: 23-29.
- Mierziak J, Kostyn K, Kulma A. 2014. Review Flavonoids as important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules* 19: 16251.
- Minarni E, Armansyah T, Hanafiah M. 2013. Daya larvasida ekstrak etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Medikal Veterinaria*: 0853-1943.
- Ninan S, Krishnakumar K, Dineshkumar B. 2017. Larvacidal activity of herbals: a review. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics* 5:10-14.
- Novizan, 2002, *Membuat Dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

- Nugroho AD. 2013. Perbedaan Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* setelah Pemberian Abate Dibandingkan dengan Pemberian Serbuk Serai (*Andropogon nardus*) [SKRIPSI]. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Okumu FO, Knols BG, Fillinger U. 2007. Larvacidal effects of a neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal* 6: 1-8.
- Perumalsamy *et al.* 2013. Novel histopathological and molecular effects of natural compound pellitorine on larval midgut epithelium and anal gills of *Aedes aegypti*. *Plos one* 8: 1-9.
- Praeparandi. 1978. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. hlm 9.
- Pramono S. 2005. *Penanganan Pasca Panen dan Penaruhnya terhadap Efek Terapi Obat Alam*. Di dalam: Seminar Pojaknas TOI XXVIII. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. hlm 1-6.
- Prastowo EA. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Prihandono IW. 1996. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Kandungan Daun *Plumeria acuminata*,. Ait beserta Profil Kromatografinya [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Rolliana ER. 2010. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba L.*) terhadap Larva *Artemia salina Leach* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Shivakumar MS, Srinivasan R, Natarajan D. 2013. *Natural product Isolation*. New Jersey: Human press.
- Sivanathan. 2006. Ekologi dan Biologi *Aedes aegypti (L)* dan *Aedes albopictus (Skues)* (Diptera: *Culicidae*) dan Status Keterpaparan *Aedes aegypti* (Strain Lapangan) terhadap Organofosfat di Pulau Pinang Malaysia [Tesis]. Malaysia: Univesitas Malaysia.
- Sudarto. 1972. *Atlas Entomologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sudjana, Primal. 2010. *Diagnosis Dini Penderita Demam Berdarah Dengue Dewasa*. Di dalam: *Buletin Jendela Epidemiologi*. ISSN: 2087-1546. hlm 21-24.
- Sukohar A. 2014. Demam Berdarah *Dengue*. *Medula*, 2: 1-15.

- Sumarmo SPS. 1983. *Demam Berdarah Dengue pada Anak*. Jakarta: UI Press.
- Sungkar S. 2005. Bionomik *Aedes aegypti*, Vektor Demam Berdarah Dengue. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 55(4): 384-9.
- Suwasono H, Soekirno M. 2004. Uji coba beberapa insektisida golongan Pyrethroid sintetik terhadap vector demam berdarah dengue *Aedes aegypti* di wilayah Jakarta Utara. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 1: 44.
- [USEPA] United States Environmental Protection Agency. 2007. *Larvasides for Mosquito Control*. United States: United States Environmental Protection Agency.
- Utami RS. 2011. Uji Efikasi Insektisida Abate terhadap Angka Kematian, Fakunditas, Fertilitas, dan Daya Hidup Larva Instar III Nyamuk *Aedes aegypti* (Linn) di Laboratorium. [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*. hlm 570-571.
- Wijayakusuma H. 2000. *Ensiklopedia Milenium : Bunga-Bunga*. Volume 1. Jakarta: Gema Insani. hlm 77.
- Wirawan AI. 2006. *Insektisida Pemukiman, hama pemukiman Indonesia Pengenalan, Biologi dan Pengendalian*. Bogor: Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman (UKPHP) Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

L

A

M

**P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



No : 198/DET/UPT-LAB/29/VII/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Zaniroh
NIM : 20144322 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kamboja / *Plumeria acuminata* Ait**

Determinasi berdasarkan Steenis: FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120a – 121b – 124b – 125a – 126b – 127b. familia 105 Apocynaceae. 1a – 2b. 1. *Plumeria*. ***Plumeria acuminata* Ait.**

Deskripsi :

Habitus : Pohon, kecil, tinggi dapat mencapai 6 meter.
Batang : Percabangan monopodial, berkayu, bergetah.
Daun : Tunggal, bentuk lanset, ujung meruncing, pangkal meruncing, tepi rata, tulang daun menyirip, hijau.
Bunga : Malai rata, berbau harum; kelopak kecil; mahkota berbentuk corong, daun mahkota 5, tabung sempit, sisi dalam agak kuning, selanjutnya putih atau merah, tumpul, lebar 1,5-2,5 cm; bakal buah 2, lepas; tangkai putik pendek; dasar bunga menonjol menutupi tabung kelopak; kepala putik berlekuk 2.
Buah : Bumbung 1 atau 2, saling berjauhan, bentuk garis lanset, berbiji banyak.
Biji : Kecil, bersayap.
Akar : Tunggang.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 27 Juli 2017
Tim determinasi



Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU

Lampiran 2. Surat keterangan larva nyamuk *Aedes aegypti*



PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN

Jl. Jend. A. Yani No.118 Telp. 8280356 – 8280660 – 8280713 Fax (031) 8290423 Surabaya 60231

SURAT KETERANGAN

Nomor : 097/ 039 /102.3/X/2017

Yang bertanda tangan dibawah ini kami :

Nama : A. Hasan Huda, SKM. MSi

N I P : 19630606 198503 1 019

Jabatan : Kepala Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur

Dengan ini menerangkan bahwa :

N a m a : Zaniroh

N I M : 20144322A

Status : Mahasiswa Progdii S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setiabudi Surakarta

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Larvasida Ekstak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kamboja (*Plumeria acuminata W.T. Ait*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*.

Bahwa mahasiswa tersebut dalam penelitiannya menggunakan telur *Aedes aegypti* sebanyak 1950 butir yang dibiakkan di Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenarnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 23 Oktober 2017

LABORATORIUM ENTOMOLOGI
DINAS KESEHATAN PROVINSI
JAWA TIMUR

LABORATORIUM
ENTOMOLOGI
DINAS KESEHATAN

A. Hasan Huda, SKM. MSi.
NIP : 19630606 198503 1 019

Lampiran 3. Ethical clearance



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 781 / VII / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta. after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN RAKSI AIR DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* W.T.Ait) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*

Principal investigator : Zaniroh
 Peneliti Utama : 20144322A

Location of research : Salatiga
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 31 Jul 2017

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr. Sp.F.M.M.
 NIP. 19621022 199503 1 001



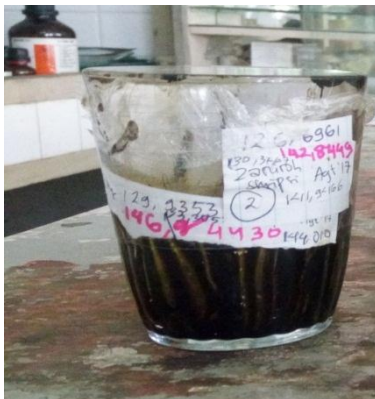
Lampiran 4. Proses pembuatan serbuk, ekstrak, dan hasil ekstraksi dan fraksinasi



Mesin penggiling



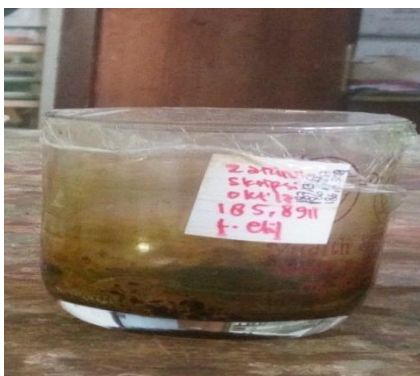
Serbuk kering + ayakan no.40



Hasil ekstraksi



Hasil fraksinasi *n*-heksana



Hasil fraksinasi etil asetat



Hasil fraksinasi air

Lampiran 5. Corong pisah, *Moisiture balance*, larva yang digunakan



Moisiture balance



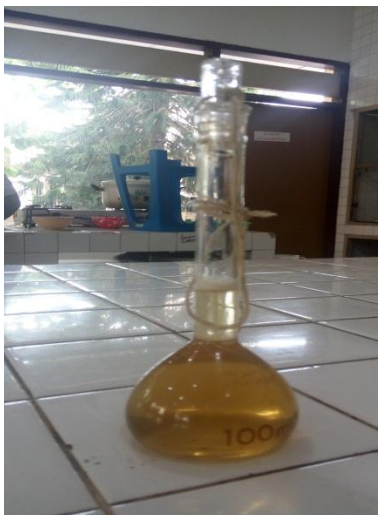
Uji larvasida



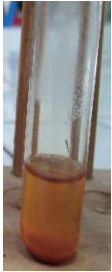


















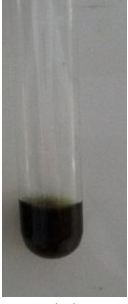
Larva instar III

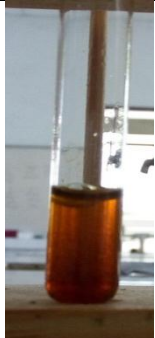






Corong pisah

Lampiran 6. Larutan stok**Larutan stok ekstrak****Larutan stok fraksi *n*-heksana****Larutan stok fraksi etil asetat****Larutan stok fraksi air**

Lampiran 7. Identifikasi senyawa dengan reaksi warna pada serbuk, ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air

Sampel	Alkaloid		Flavonoid	Saponin	Polifenol
	Dragendroff	Mayer			
Ekstrak etanol	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
Fraksi <i>n</i> -heksana	 (-)	 (-)	 (+)	 (+)	 (-)
Fraksi etil asetat	 (+)	 (+)	 (+)	 (-)	 (+)
Fraksi air	 (+)	 (+)	 (+)	 (-)	 (+)

Sampel	Alkaloid		Flavonoid	Saponin	Polifenol
	Dragendroff	Mayer			
Serbuk	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)

➤ Tes bebas etanol



Lampiran 8. Perhitungan rendemen pengeringan daun kamboja

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
3900	860	22,05

$$\text{Perhitungan \% rendemen} = \frac{860 \text{ g}}{3900 \text{ g}} \times 100\% = 22,05\%$$

Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak daun kamboja

Serbuk daun kamboja (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
300	89,1218	29,70

Perhitungan % rendemen ekstrak daun kamboja = $\frac{89,1218 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100\% = 29,70 \%$

Lampiran 10. Perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun kamboja

Hasil perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun kamboja :

No.	Berat ekstrak (g)	Volume terbaca(ml)	Kadar air (%)
1	10	1,6	16
2	10	1,7	17
3	10	1,6	16
Rata-rata			16,3

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{volume terbaca}}{\text{berat ekstrak}} \times 100\%$$

Replikasi 1

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,6 \text{ ml}}{10 \text{ g}} = 16\% \text{ v/b}$$

Replikasi 2 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,7 \text{ ml}}{10 \text{ g}} = 17\% \text{ v/b}$$

Replikasi 3 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,6 \text{ ml}}{10 \text{ g}} = 16\% \text{ v/b}$$

Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksinasi

Nama Pelarut	Bobot ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Persen rendemen (%)
<i>n</i> - heksan	20	4,1663	20,83
Etil asetat	20	1,2436	6,22
Air	20	10,7937	53,97

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen } n\text{-heksana} = \frac{4,1663}{20} \times 100\% = 20,83 \%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{1,2436}{20} \times 100\% = 6,22 \%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{10,7937}{20} \times 100\% = 53,97\%$$

Lampiran 12. Perhitungan pengambilan larutan stok ekstrak dan fraksi

Konsentrasi larutan induk = 1000 ppm = 100mg/100ml Perhitungan pengambilan volume larutan stok :

- Konsentrasi 1000 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 = 50 \times 1000$$

$$V_1 = \frac{50 \times 1000}{1000}$$

$$V_1 = 50 \text{ ml}$$
- Konsentrasi 500 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 = 50 \times 500$$

$$V_1 = \frac{50 \times 500}{1000}$$

$$V_1 = 25 \text{ ml}$$
- Konsentrasi 250 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 = 50 \times 250$$

$$V_1 = \frac{50 \times 250}{1000}$$

$$V_1 = 12,5 \text{ ml}$$
- Konsentrasi 125 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 = 50 \times 125$$

$$V_1 = \frac{50 \times 125}{1000}$$

$$V_1 = 6,25 \text{ ml}$$
- Konsentrasi 62,5 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 = 50 \times 62,5$$

$$V_1 = \frac{50 \times 62,5}{1000}$$

$$V_1 = 3,125 \text{ ml}$$

Lampiran 13. Perhitungan LC₅₀ ekstrak dengan menggunakan analisis probit

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah total larva uji}} \times 100 \%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	15	60	5,25
500	2,70	11	44	4,85
250	2,40	9	36	4,64
125	2,10	5	20	4,16
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 2,046$$

$$b = 1,0567$$

$$r = 0,989$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,046 + 1,0567x$$

$$2,954 = 1,0567x$$

$$x = 2,80$$

$$\text{antilog } x = 630,960$$

$$\text{LC}_{50} = 630,960 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	14	56	5,15
500	2,70	12	48	4,95
250	2,40	9	28	4,42
125	2,10	5	24	4,29
62,5	1,80	4	12	3,82

$$a = 1,87$$

$$b = 1,1067$$

$$r = 0,985$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,87 + 1,1067x$$

$$3,13 = 1,1067x$$

$$x = 2,82$$

$$\text{antilog } x = 660,693$$

$$LC_{50} = 660,693 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	16	64	5,36
500	2,70	11	44	4,85
250	2,40	8	32	4,53
125	2,10	5	20	4,16
62,5	1,80	4	8	3,59

$$a = 1,114$$

$$b = 1,41$$

$$r = 0,995$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,114 + 1,41x$$

$$3,886 = 1,41x$$

$$x = 2,76$$

$$\text{antilog } x = 575,440$$

$$LC_{50} = 575,440 \text{ ppm}$$

x (ppm)	\bar{x}	$d = x - \bar{x} $	d^2	SD	$\bar{x} \pm SD$	$LC_{50} \pm SD$ (ppm)
630,960		8,596	73,89			
660,693	662,364	38,329	1469,11	43,271	579,093–665,635	622,364
575,440		46,924	2201,86			
		Σ	3744,86			

Lampiran 14. Perhitungan LC₅₀ fraksi *n*-heksana dengan menggunakan analisis probit

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah total larva uji}} \times 100 \%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	16	64	5,36
500	2,70	12	48	4,95
250	2,40	9	36	4,64
125	2,10	7	28	4,42
62,5	1,80	5	20	4,16

$$a = 2,362$$

$$b = 0,9767$$

$$r = 0,992$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,362 + 0,9767x$$

$$2,638 = 0,9767x$$

$$x = 2,70$$

$$\text{antilog } x = 501,187$$

$$\text{LC}_{50} = 501,187 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	18	72	5,58
500	2,70	15	60	5,25
250	2,40	9	36	4,64
125	2,10	7	28	4,42
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 1,604$$

$$b = 1,3233$$

$$r = 0,991$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,604 + 1,3233x$$

$$3,396 = 1,3233x$$

$$x = 2,57$$

$$\text{antilog } x = 371,535$$

$$LC_{50} = 371,535 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	15	60	5,25
500	2,70	13	52	5,05
250	2,40	10	40	4,75
125	2,10	6	24	4,29
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 2,078$$

$$b = 1,08$$

$$r = 0,991$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,078 + 1,08x$$

$$2,922 = 1,08x$$

$$x = 2,70$$

$$\text{antilog } x = 501,187$$

$$LC_{50} = 501,187 \text{ ppm}$$

x (ppm)	\bar{x}	$d = x - \bar{x} $	d^2	SD	$\bar{x} \pm SD$	$LC_{50} \pm SD$ (ppm)
501,187		43,218	1867,79			
371,535	457,969	86,434	7470,83	74,85	383,119-532,819	501,187
501,187		43,218	1867,79			
		Σ	11206,41			

Lampiran 15. Perhitungan LC₅₀ fraksi etil asetat dengan menggunakan analisis probit

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah total larva uji}} \times 100 \%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	20	80	5,84
500	2,70	18	72	5,58
250	2,40	14	56	5,15
125	2,10	9	36	4,64
62,5	1,80	5	20	4,16

$$a = 1,634$$

$$b = 1,433$$

$$r = 0,993$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,634 + 1,433x$$

$$3,366 = 1,433x$$

$$x = 2,35$$

$$\text{antilog } x = 223,872$$

$$\text{LC}_{50} = 223,872 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	21	84	5,99
500	2,70	18	72	5,58
250	2,40	13	52	5,05
125	2,10	8	32	4,53
62,5	1,80	6	24	4,29

$$a = 1,528$$

$$b = 1,483$$

$$r = 0,993$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,528 + 1,483x$$

$$3,472 = 1,483x$$

$$x = 2,34$$

$$\text{antilog } x = 218,776$$

$$LC_{50} = 218,776 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	21	84	5,99
500	2,70	17	68	5,47
250	2,40	15	60	5,25
125	2,10	8	32	4,53
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 1,13$$

$$b = 1,633$$

$$r = 0,989$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 1,13 + 1,633x$$

$$3,87 = 1,633x$$

$$x = 2,37$$

$$\text{antilog } x = 234,423$$

$$LC_{50} = 234,423$$

X	\bar{x}	$d = x - \bar{x} $	d^2	SD	$\bar{x} \pm SD$	$LC_{50} \pm SD$
223,872		1,818	3,31			
218,776	225,690	6,914	47,80	7,90	217,79-233,59	221,324
234,423		8,733	76,27			
		Σ	127,38			

Lampiran 16. Perhitungan LC₅₀ fraksi air dengan menggunakan analisis probit

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah total larva uji}} \times 100 \%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	11	44	4,85
500	2,70	9	36	4,64
250	2,40	7	28	4,42
125	2,10	6	24	4,29
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 2,818$$

$$b = 0,6767$$

$$r = 0,995$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,818 + 0,6767x$$

$$2,182 = 0,6767x$$

$$x = 3,22$$

$$\text{antilog } x = 1659,587$$

$$\text{LC}_{50} = 1659,587 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	10	40	4,75
500	2,70	9	36	4,64
250	2,40	7	28	4,42
125	2,10	5	20	4,16
62,5	1,80	4	16	4,01

$$a = 2,828$$

$$b = 0,6533$$

$$r = 0,992$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,828 + 0,6533x$$

$$2,172 = 0,6533x$$

$$x = 3,32$$

$$\text{antilog } x = 2089,296$$

$$LC_{50} = 2089,296 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi [x]	Jumlah kematian larva	% kematian (%)	Probit [y]
1000	3	11	44	4,85
500	2,70	8	32	4,53
250	2,40	7	28	4,42
125	2,10	4	16	4,01
62,5	1,80	3	12	3,82

$$a = 2,262$$

$$b = 0,86$$

$$r = 0,988$$

$$y = a + bx$$

$$5 = 2,262 + 0,86x$$

$$2,738 = 0,86x$$

$$x = 3,18$$

$$\text{antilog } x = 1513,561$$

$$LC_{50} = 1513,561$$

X	\bar{x}	$d = x - \bar{x} $	d^2	SD	$\bar{x} \pm SD$	$LC_{50} \pm SD$
1659,587		94,597	8948,59			
2089,296	1586,574	335,112	112300,05	299,28	1454,90–2053,46	1754,184
1513,561		240,623	57899,42			
		Σ	179148,06			

Lampiran 17. Hasil statistik

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		LC50
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	765.04308
	Std. Deviation	628.553204
Most Extreme Differences	Absolute	.316
	Positive	.316
	Negative	-.192
Kolmogorov-Smirnov Z		1.094
Asymp. Sig. (2-tailed)		.182

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keterangan :

H_0 = data terdistribusi normal

H_1 = data tidak terdistribusi normal

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,182 > 0,05 H_0 diterima, sehingga data tersebut terdistribusi normal

Oneway Anova

Test of Homogeneity of Variances

LC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.361	3	8	.011

Keterangan :

H_0 = data homogen

H_1 = data tidak homogen

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,011 < 0,05 H_0 ditolak, sehingga tidak ada perbedaan variasi sehingga tidak dapat dilanjutkan uji anova karena tidak memenuhi persyaratan.

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics^{a,p}

		LC50
Chi-Square		10.421
df		3
Asymp. Sig.		.015

Keterangan :

H_0 = data terdistribusi normal

H_1 = data tidak terdistribusi normal

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,015 < 0,05 H_0 ditolak, sehingga data tidak terdistribusi normal.

Mann-Whitney Test

Keterangan :

Perlakuan 1 = ekstrak

Perlakuan 2 = fraksi *n*-heksana

Perlakuan 3 = fraksi Etil asetat

Perlakuan 4 = fraksi air

Perlakuan 1,2

Test Statistics^b

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,046 < 0,05, sehingga H_0 ditolak = ada perbedaan perlakuan 1,2

Perlakuan 1,3

Test Statistics^b

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,050 \leq 0,05, H_0 ditolak sehingga ada perbedaan perlakuan 1,3

Perlakuan 1,4

Test Statistics^b

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig ≤ 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,050 ≤ 0,05, H_0 ditolak sehingga ada perbedaan perlakuan 1,4

Perlakuan 2,3

Test Statistics^b

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig ≤ 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,046 ≤ 0,05, H_0 ditolak sehingga ada perbedaan perlakuan 2,3

Perlakuan 2,4

Test Statistics^b

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

Sig ≤ 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,046 ≤ 0,05, H_0 ditolak sehingga ada perbedaan perlakuan 2,4

Perlakuan 3,4

Test Statistics^d

	LC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Keterangan :

H_0 = tidak berbeda perlakuan

H_1 = berbeda perlakuan

Sig > 0,05, H_0 diterima

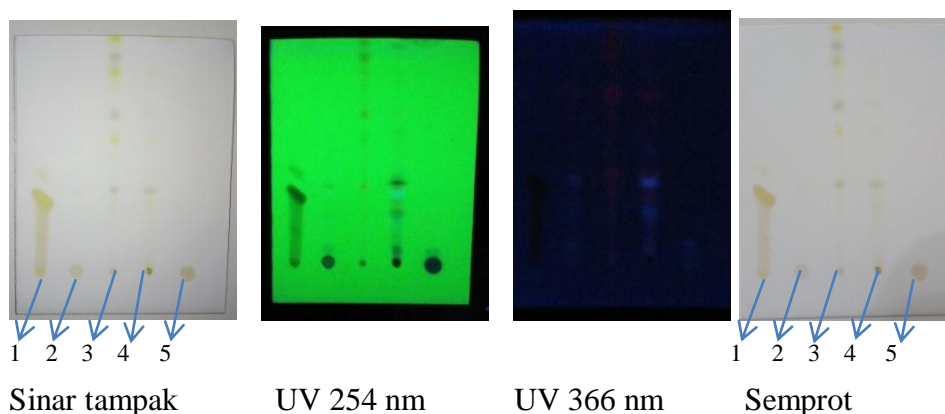
Sig \leq 0,05, H_0 ditolak

Sig = 0,046 \leq 0,05, H_0 ditolak sehingga ada perbedaan perlakuan 3,4

Lampiran 18. Hasil KLT ekstrak dan fraksi daun kamboja

Flavonoid

Fase gerak: heksan:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2). Penampak noda: uap sitroborat. Jika timbul warna kuning pudar, sedangkan pada UV 254 nm terjadi fluoresensi biru gelap dan UV 366 nm terjadi fluoresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987).



Keterangan :

1. Perbandingan quersetin
2. Ekstrak
3. Fraksi *n*-heksana
4. Fraksi etil asetat
5. Fraksi air

$$R_f = \frac{\text{jarak bercak dari titik awal penotolan sampai batas elusi}}{\text{jarak tempuh fase gerak sampai batas elusi}}$$

$$R_f \text{ Quersetin} = \frac{1,8}{5} = 0,36$$

$$R_f \text{ Ekstrak} = \frac{2}{5} = 0,4$$

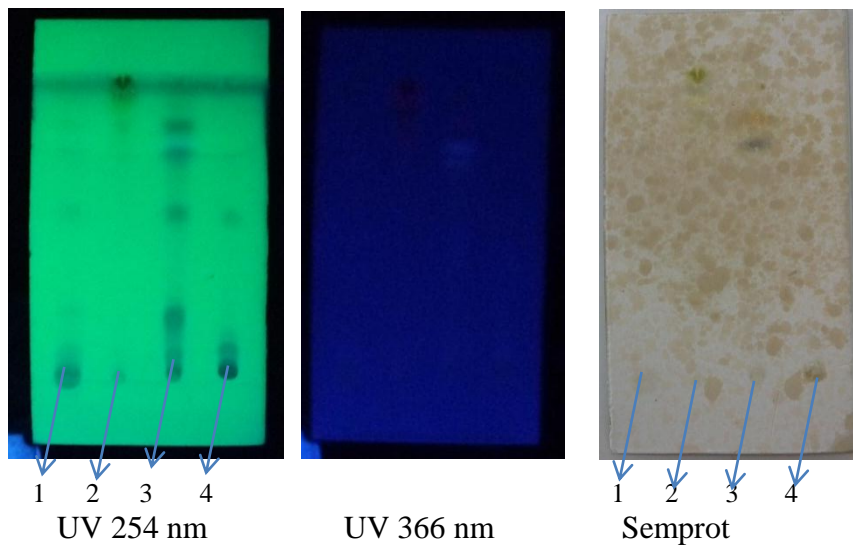
$$R_f \text{ Fraksi } n\text{-heksana} = \frac{2}{5} = 0,4$$

$$R_f \text{ Fraksi etil asetat} = \frac{1,8}{5} = 0,36$$

$$R_f \text{ fraksi air} = \frac{1}{5} = 0,2$$

Polifenol

Fase gerak: kloroform:etil asetat:asam formiat (0,5:9:0,5). Penampak noda: FeCl_3 10%. Jika timbul warna hitam setelah penyemprotan FeCl_3 10% menunjukkan adanya senyawa polifenol dalam totolan (Marliana 2007).



Keterangan :

1. Ekstrak
2. Fraksi *n*-heksana
3. Fraksi etil asetat
4. Fraksi air

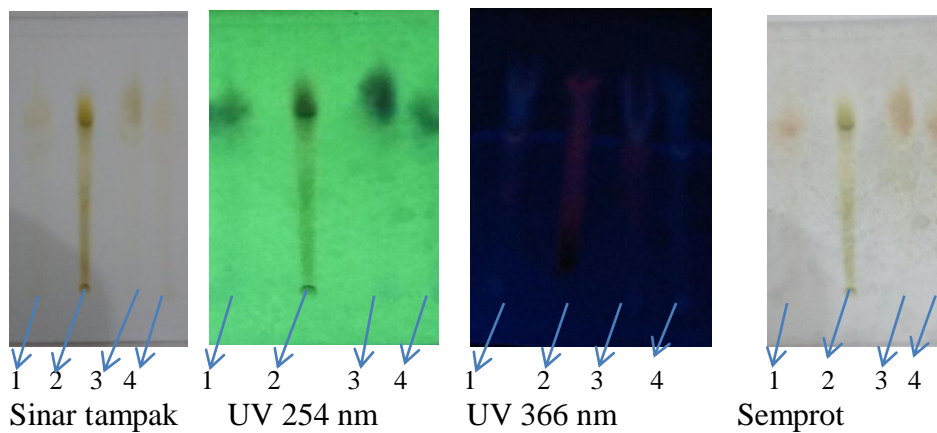
$$R_f \text{ Ekstrak} = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

$$R_f \text{ Fraksi etil asetat} = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

$$R_f \text{ Fraksi air} = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

Alkaloid

Fase gerak: toluene:etil asetat:dietil amin (7:2:1). Penampak noda: pereaksi dragendroff. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi Dragendroff menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia, dibawah sinar UV 366 nm, alkaloid akan berfluoresensi biru, biru-hijau atau ungu (Depkes 1989).



Keterangan :

1. Ekstrak
2. Fraksi *n*-heksana
3. Fraksi etil asetat
4. Fraksi air

$$Rf \text{ ekstrak} = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

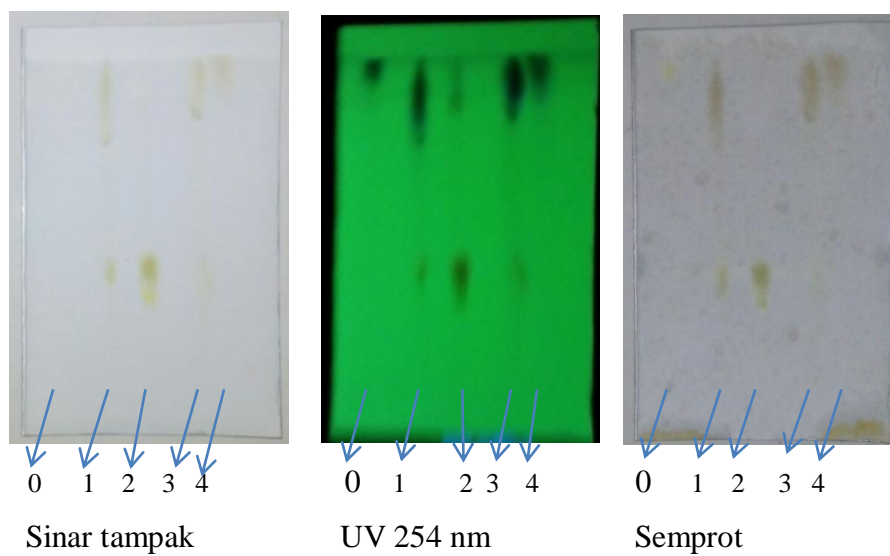
$$Rf \text{ fraksi } n\text{-heksana} = \frac{3,8}{5} = 0,76$$

$$Rf \text{ fraksi etil asetat} = \frac{4}{5} = 0,73$$

$$Rf \text{ fraksi air} = \frac{3,5}{5} = 0,7$$

Saponin

Fase gerak: kloroform:methanol:air (6:3:1). Penampak noda: Lieberman Burchard menghasilkan warna coklat gelap, kekuningan. Sedangkan pada UV 254 nm menjadi warna gelap dan UV 366 nm terjadi warna kuning (Harbone 1987)



Keterangan :

0. Pembanding
1. Ekstrak
2. Fraksi *n*-heksana
3. Fraksi etil asetat
4. Fraksi air

$$Rf \text{ baku} = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf \text{ ekstrak} = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf \text{ } n\text{-heksana} = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf \text{ etil asetat} = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf \text{ air} = \frac{4}{5} = 0,8$$