

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN
(*Paederia foetida* L) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Oleh:

**Dewi Anggriani
18123493 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN
(*Paederia foetida* L) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Dewi Anggriani
18123493 A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul:

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN
(*Paederia foetida* L) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

Oleh:
Dewi Anggriani
18123493A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : Desember 2016

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan



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

Pembimbing Utama

Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Yane Dilla Keswara, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
3. Drs. Supriyadi, M.Si
4. Ilham Kuncahyo S.Si., M.Sc., Apt

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya.

(*Matius 21:22*)

“Ilmu tanpa agama lumpuh. Agama tanpa ilmu buta”

(Albert Einstein)

Dengan segala rasa puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan yang maha esa atas segala berkat dan anugerah nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Tidak terlepas juga doa, bantuan, dan dukungan dari orang orang tercinta di sekitar saya , maka dari itu dengan rasa bangga saya persembahkan karya ini kepada :

- ♣ Tuhanku sumber kekuatan dan penolongku yang selalu membantu umatnya dalam segala perkara.
- ♣ My lovely parents , “ BABAHA” dan “ MAMAHA” ku terkasih dengan segala dukungan moril ,materi, doa, dan semangat nya yang melebihi apapun didunia ini.
- ♣ My lovely sister and brother “KA itot” dan “Ino” yang selama masa perantauan ku raga kita terpisah jauh namun hati kita selalu dekat .
- ♣ Bu IKA dan Bu DILA yang telah membimbing dan memberikan semangat serta bantuan nya dari awal hingga akhir skripsi ini.
- ♣ My best friend “B27”.
- ♣ Kalteng family yang jadi saudara seperantauan .
- ♣ My patner skripsi “ Theodora Anna Anggraini” yang jadi teman seskripsi seperjuangan.
- ♣ Wapala EXESS family yang membuat masa perantauan di Solo menjadi lebih berwarna.
- ♣ Fortuna Girl.
- ♣ Tanah air INDONESIAKU.
- ♣ Almamaterku.

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/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Desember 2016



Dewi Anggriani

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan petunjuk dan kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN (*Paederia foetida* L) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*”** yang mana untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) dalam ilmu Farmasi dan Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Taringan, 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, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian dan penyusun skripsi ini.
3. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. Selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat dan petunjuk dalam penyusun skripsi ini.
4. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt. Selaku pembimbing pendamping yang telah membantu dalam penyusun skripsi ini.
5. Dwi Ningsih, M.Farm.,Apt selaku penguji pertama yang telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi dapat terlaksana.
6. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si Selaku penguji kedua yang telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi dapat terlaksana.

7. Dr.Drs.Supriyadi, M.Si selaku penguji ketiga yang telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi dapat terlaksana.
8. Ilham Kuncahyo S.Si., M.Sc., Apt selaku penguji keempat yang telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi dapat terlaksana.
9. Segenap Dosen, Karyawan dan Staff Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu kelancaran skripsi ini.
10. Segenap karyawan Perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
11. Segenap karyawan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit di Salatiga yang telah membantu kelancaran skripsi ini.
12. Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih ada kekurangan dan kurang sempurna. Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun, semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta untuk pengembangan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, 9 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.).....	6
1. Sistematika daun sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.)	6
2. Nama daerah.....	6
3. Morfologi tanaman	6
4. Habitat tanaman.....	7
5. Kandungan kimia tanaman	7
5.1. Saponin.	7
5.2. Flavonoid.	8
5.3. Alkaloid.....	8
6. Khasiat dan kegunaan.....	8
B. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	9
1. Sistematika nyamuk	9
2. Morfologi.....	9
2.1 Telur.....	9

2.2	Larva.....	10
2.3	Pupa.....	10
2.4	Dewasa.....	11
3.	Siklus hidup.....	11
4.	Perilaku hidup.....	12
5.	Epidemiologi.....	13
C.	Demam Berdarah.....	14
D.	Larvasida.....	14
E.	Simplisia.....	15
F.	Ekstrak.....	16
G.	Metode Penyarian Simplisia.....	17
1.	Penyarian.....	17
2.	Maserasi.....	17
3.	Fraksinasi.....	18
4.	Pelarut.....	18
4.1.	Etanol.....	19
4.2.	Etil asetat.....	19
4.3.	N heksana.....	19
4.4.	Air.....	19
H.	Uji Toksisitas.....	20
I.	Kromatografi Lapis Tipis.....	21
J.	Landasan Teori.....	22
K.	Hipotesis.....	24
BAB III	METODE PENELITIAN.....	26
A.	Populasi dan Sampel.....	26
1.	Populasi.....	26
2.	Sampel.....	26
B.	Variabel Penelitian.....	26
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	26
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	26
3.	Definisi Operasional Variabel Utama.....	27
C.	Alat dan Bahan.....	28
1.	Alat.....	28
2.	Bahan.....	29
D.	Tahapan Penelitian.....	29
1.	Determinasi dan Identifikasi Tanaman Sembukan.....	29
2.	Pengambilan Bahan.....	29
3.	Pembersihan dan Pengeringan Bahan.....	29
4.	Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Serbuk Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L).....	30
4.1	Penyiapan sampel.....	30
4.2	Identifikasi saponin.....	30
4.3	Identifikasi alkaloid.....	30
4.4	Identifikasi flavonoid.....	31

5. Penetapan Kandungan Lembab Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)	31
6. Tes Bebas Etanol	31
7. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)	31
8. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun sembukun (<i>Paederia foetida</i> L).....	33
8.1. Penyiapan sampel.....	33
8.2. Pemeriksaan flavonoid.....	33
8.3. Pemeriksaan alkaloid.....	33
8.4. Pemeriksaan saponin.....	34
9. Fraksinasi Ekstrak Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)...	34
10. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Fraksi Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L) Secara KLT	34
10.1 Penyiapan sampel.....	34
10.2 Identifikasi senyawa golongan alkaloid.....	35
10.3 Identifikasi senyawa golongan saponin.....	35
10.4 Identifikasi senyawa golongan flavonoid.....	35
11. Preparasi Sampel Larutan Uji.....	35
12. Uji Aktivitas Larvasida	36
13. Penetapan LC ₅₀	38
14. Analisis data	38
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	 39
A. Hasil Penelitian.....	39
1. Determinasi Tanaman Sembukan.....	39
2. Pengambilan Bahan	39
3. Hasil Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Sembukan	39
3.1 Pengeringan daun sembukun.....	40
3.2 Hasil pembuatan serbuk daun sembukun.....	40
4. Hasil Penetapan Kadar Kelembababan Daun Sembukan.....	40
5. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Serbuk dan Ekstrak Daun Sembukan	41
6. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembukan.....	42
7. Hasil Tes Bebas Etanol Ekstrak Daun Sembukan.....	43
8. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)	43
9. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Daun Sembukan	44
10. Hasil Preparasi Sampel Larutan Uji	45
11. Hasil Uji aktivitas larvasida	46
12. Penetapan LC ₅₀	47

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	53
	A. Kesimpulan.....	53
	B. Saran.....	53
	DAFTAR PUSTAKA	55
	LAMPIRAN.....	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	12
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun sembukan	32
Gambar 3. Skema pembuatan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.....	36
Gambar 4. Skema uji aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> instar III.	37
Gambar 5. Nilai rata-rata LC ₅₀ ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembukan terhadap larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)	40
Tabel 2. Hasil penetapan kandungan lembab daun sembukan (<i>Paederia foetida</i> L)	41
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia daun sembukan	41
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun sembukan	42
Tabel 5. Hasil tes bebas etanol	43
Tabel 6. Presentase rendemen fraksi n-heksana, etil asetat, air dari ekstrak daun sembukan	43
Tabel 7. Hasil identifikasi flavonoid daun sembukan dengan uji KLT	44
Tabel 8. Hasil kandungan saponin daun sembukan dengan uji KLT	44
Tabel 9. Hasil kandungan alkaloid daun sembukan dengan uji KLT.....	45
Tabel 10. Hasil preparasi larutan stok dari ekstrak dan fraksi daun sembukan..	45
Tabel 11. Hasil uji aktivitas larvasida.....	46
Tabel 12. Nilai LC50 ekstrak etanol, fraksi n heksana, fraksi etil asetat, fraksi air	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Sembukan	61
Lampiran 2. Surat Keterangan Penelitian di Balai Besar Penyakit dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP).....	62
Lampiran 3. Surat Keterangan Kelayakan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)	63
Lampiran 4. Tanaman Daun Sembukan, Serbuk Daun Sembukan, Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Sembukan	64
Lampiran 5. Foto Timbangan Analitik, Evaporator, dan <i>Moizture Balance</i> ...	65
Lampiran 6. Foto Kontrol Positif dan Negatif, Gelas Uji Larvasida, Larva <i>Aedes aegypti</i> , Larutan Stok	66
Lampiran 7. Foto Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk dan Ekstrak Etanolik Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.)	67
Lampiran 8. Perhitungan Rf Flavonoid Dengan Pembanding Quersetin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan	70
Lampiran 9. Perhitungan Rf Saponin Dengan Pembanding Saponin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan	71
Lampiran 10. Perhitungan Rf Alkaloid Dengan Pembanding Quinin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan	72
Lampiran 11. Perhitungan Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.)	73
Lampiran 12. Hasil Penetapan Kandungan Lembab Serbuk Daun Sembukan..	74
Lampiran 13. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.)	75
Lampiran 14. Perhitungan Rendemen Fraksi N heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L.).....	76
Lampiran 15. Perhitungan penyiapan stok kontrol positif dan kontrol negatif.	77
Lampiran 16. Perhitungan pembuatan dan pengambilan volume larutan induk ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air	78

Lampiran 17. Pengaruh Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sembukan Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	79
Lampiran 18. Pengaruh Perlakuan Fraksi N-heksana Daun Sembukan Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	84
Lampiran 19. Pengaruh Perlakuan Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	89
Lampiran 20. Pengaruh Perlakuan Fraksi Air Daun Sembukan Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	94
Lampiran 21. Grafik Hubungan Antara Log konsentrasi Dan Probit Ekstrak Etanol Daun Sembukan (<i>Paederia Foetida</i> L).....	99
Lampiran 22. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi N-Heksana Daun Sembukan (<i>Paederia Foetida</i> L)	100
Lampiran 23. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan (<i>Paederia Foetida</i> L)	101
Lampiran 24. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi Air Daun Sembukan (<i>Paederia Foetida</i> L).....	102
Lampiran 25. Data Analisa Hasil Perhitungan LC50 dan Persen Kematian Ekstrak Etanol, Fraksi <i>n</i> -Heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air.....	103
Lampiran 26. Tabel Probit	113

INTISARI

ANGGRIANI, D, 2016, UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN (*Paederia foetida* L) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*, FAKULTAS FARMASI, SKRIPSI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Sembukan merupakan salah satu tanaman di Indonesia yang bermanfaat sebagai larvasida. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas larvasida ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, air daun sembuk terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Serbuk daun sembuk dimaserasi menjadi ekstrak kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, air. Masing-masing ekstrak dan fraksi dibuat menjadi 3 seri konsentrasi (400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm). Diujikan dalam gelas uji yang berisi 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III selama 24 jam, dihitung jumlah larva yang mati. Percobaan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi. Abate 1G digunakan sebagai kontrol positif dan larutan tween 80 sebagai kontrol negatif. LC₅₀ masing-masing konsentrasi ditetapkan menggunakan metode analisa probit.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat daun sembuk (*Paederia foetida* L) mempunyai aktivitas larvasida yang lebih baik dengan nilai LC₅₀ sebesar 588,885 ppm dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi air dengan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 679,516 ppm, 734,852 ppm, 851,344 ppm.

Kata kunci: Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.), *Aedes aegypti*, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, LC₅₀

ABSTRACT

ANGGRIANI, D, 2016, TEST OF LARVICIDE ACTIVITY EXTRACT AND FRACTION OF SEMBUKAN (*Paederia foetida* L) LEAF TO *Aedes aegypti* LARVAE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Sembukan is one of the plants in Indonesia which useful as larvicide. The purpose of this study was to determine the larvicide activity extracts and fractions of n-hexane, ethyl acetate, water of sembukan leaf to *Aedes aegypti* instar III.

The powder of sembukan leaf macerated into extract then fractionated using n-hexane, ethyl acetate, water. Each extracts and fractions made into 3 concentration series (400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm). Tested in test glass contains 25 larvae of *Aedes aegypti* instar III for 24 hours, counted the number of larvae die. The experiment was conducted three times for each concentration. Abate 1G used as positive control and Tween 80 solution as negative control. LC₅₀ of each concentration determined using probit analysis.

The results showed ethyl acetate fraction of sembukan (*Paederia foetida* L) leaf had better larvicide activity with LC₅₀ value of 588.885 ppm compared to ethanol extract, n-hexane fraction, water fraction with LC₅₀ values were 679.516 ppm, 734.852 ppm, 851.344 ppm, respectively.

Keywords: Sembukan (*Paederia foetida* L.) Leaf, *Aedes aegypti*, ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction, LC₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara terbesar di dunia yang memiliki iklim tropis. Iklim tropis menimbulkan berbagai macam penyakit tropis yang salah satunya disebabkan oleh nyamuk (Ndione *et al* 2007). Demam berdarah *dengue* (DBD) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* (arbovirus) yang masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (Suriadi *et al.* 2001). Metode yang dikembangkan oleh WHO untuk menangani penyakit demam berdarah adalah sama seperti metode yang digunakan untuk menangani penyakit malaria dengan cara membasmi sumber penularannya yaitu larva nyamuk (Moerid & Losung 2013).

Di Indonesia DBD telah menjadi masalah kesehatan masyarakat selama 41 tahun terakhir. Sejak tahun 1968 telah terjadi peningkatan persebaran jumlah provinsi dan kota yang endemis DBD, dari 2 provinsi dan 2 kota, menjadi 32 (97%) dan 382 (77%) kota pada tahun 2009. Provinsi Maluku, dari tahun 2002 sampai tahun 2009 tidak ada laporan kasus DBD. Selain itu terjadi juga peningkatan jumlah kasus DBD, pada tahun 1968 hanya 58 kasus menjadi 158.912 kasus pada tahun 2009. Peningkatan dan penyebaran kasus DBD tersebut kemungkinan disebabkan oleh mobilitas penduduk yang tinggi, perkembangan wilayah perkotaan, perubahan iklim, perubahan kepadatan dan distribusi penduduk serta faktor epidemiologi lainnya yang masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Kemenkes RI 2010).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi kasus demam berdarah, seperti penyuluhan, penyemprotan dan penaburan bubuk abate. Abate merupakan pembasmi larva nyamuk yang selama ini digunakan. Pemanfaatan tanaman yang berfungsi sebagai larvasida alami dapat mengurangi penggunaan larvasida sintetis yang memiliki dampak negatif bagi lingkungan (Rumengan 2010). Bintari (2012) dalam penelitiannya menggunakan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun salam yang mengandung saponin, flavonoid, dan alkaloid sebagai larvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Tanaman lain yang bermanfaat sebagai larvasida nabati adalah buah cabai yang mengandung senyawa alkaloid yang menjadi komponen larvasida (Kalsum *et al.* 2005). Kecombrang juga dianggap memiliki daya insektisida nabati, kecombrang mengandung senyawa flavonoid dan saponin, selain itu kecombrang juga mengandung polifenol dan minyak atisiri (Adityo *et al.* 2012).

Flavonoid dapat masuk melalui kutikula yang melapisi tubuh larva sehingga dapat merusak membran sel sehingga flavonoid dapat digunakan sebagai larvasida (Wakhyulianto 2005). Saponin dinilai mampu meningkatkan penetrasi zat toksik karena dapat melarutkan bahan lipofilik dalam air, mengiritasi mukosa saluran pencernaan dan memiliki rasa pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva kemudian larva akan mati karena kelaparan (Novizan 2002). Alkaloid dapat menyebabkan gangguan sistem pencernaan karena alkaloid bertindak sebagai racun perut yang masuk melalui mulut larva (HowStuffWorks 2009; Soparat 2010).

Larvasida merupakan golongan dari pestisida yang dapat membunuh serangga belum dewasa atau sebagai pembunuh larva. Larvasida berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari 2 suku kata, yaitu “Lar” berarti serangga belum dewasa dan “Sida” berarti pembunuh. Jadi larvasida diartikan sebagai pembunuh serangga yang belum dewasa atau pembunuh ulat (larva). Parameter aktivitas larvasida suatu senyawa kimia dilihat dari kematian larva.

Salah satu tanaman yang dapat di manfaatkan sebagai larvasida alami adalah daun sembukan (*Paederia foetida*). Tanaman ini dapat berfungsi sebagai antirematik, penghilang rasa sakit atau analgesik, peluruh kentut (karminatif), peluruh kencing, peluruh dahak (mukolitik), penambah nafsu makan (stomakik), antibiotik, antiradang, obat batuk, dan pereda kejang (Utami 2008).

Tanaman sembukan (*Paederia foetida* L.) termasuk dalam familia Rubiaceae yang mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, glikosida, iridioid, triterpen, steroid, asperulin, aukobin dan asam oleanolat (Vikas *et al* 2009). Selain itu, daun sembukan juga mengandung, paederin, metilmerkaptan (Solikin 2007).

Pada penelitian yang telah dilakukan Parwanto dan Wibowo (2015) pada fraksi daun sembukan dapat disimpulkan bahwa skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan fraksi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, dan terpenoid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana daun sembukan memiliki potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina*. Selain itu Sukorini (2003) dalam penelitian nya menguji pengaruh daun sembukan sebagai pestisida organik pada hama *Plutella*

xylostella dengan kandungan zat aktif saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin yang diduga dapat menghambat perkembangan *Plutella xylostella* yang menyebabkan jaringan kulit ulat ini mengkerut dan lebih kering.

Berdasarkan beberapa penelitian pada daun sembukan dengan beberapa kandungan senyawa dan zat aktif yang telah diuji toksisitas nya pada beberapa penelitian, memiliki efek dan aktivitas sebagai racun dan diduga memiliki efek toksik. Maka penelitian ini memanfaatkan tanaman sembukan yang di ambil pada bagian daunnya dan diharapkan memiliki efek toksik pada larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan tujuan dapat digunakan sebagai larvasida alami yang tidak menimbulkan bahaya, lebih ramah lingkungan, dan lebih efektif.

Dengan menggunakan metode maserasi yang bertujuan untuk mengambil zat aktif yang terdapat pada daun sembukan menggunakan etanol 96 % dan kemudian akan difraksinasi menggunakan pelarut yang sesuai. Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang lain. Pemisahan kandungan kimia ini berdasarkan polaritas atau sifat kelarutannya yang berbeda-beda pada jenis tumbuhan (Susilowati 2010). Hasil dari ekstrak dan fraksi yang diperoleh kemudian dibuat dalam berbagai konsentrasi yang akan diujikan pada larva nyamuk *Aedes aegypti*.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah pertama, apakah ekstrak dan fraksi daun sembukan (*Paederia foetida* L) mempunyai aktivitas sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ?

Kedua, manakah di antara ekstrak dan fraksi daun sembukun (*Paederia foetida* L) yang memiliki aktivitas paling baik sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dilihat dari nilai LC_{50} ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah pertama, untuk mengetahui aktivitas larvasida dari ekstrak dan fraksi daun sembukun (*Paederia foetida* L) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, mengetahui di antara ekstrak dan fraksi daun sembukun (*Paederia foetida* L) yang memiliki aktivitas paling baik sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pendayagunaan tanaman obat berkhasiat yang ada di Indonesia dan memberikan informasi kepada dunia kesehatan serta masyarakat mengenai manfaat tanaman terutama tentang sembukun khususnya sebagai larvasida dan dapat digunakan dalam penelitian lebih lanjut dalam pengembangan penelitian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)

1. Sistematika daun sembukan (*Paederia foetida* L.)

Kedudukan tanaman sembukan dalam sistematika tanaman (DepKes RI 1991)

Divisio	: Spermatopytha
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: <i>Paederia</i>
Jenis	: <i>Paederia foetida</i> L.

2. Nama daerah

Daun kentut (Melayu), kahitutan (Sunda), sembukan (Jawa), kasembukan (Madura) dan gumisiki (Ternate).

3. Morfologi tanaman

Tanaman Sembukan merupakan tanaman habitus semak, membelit, panjang \pm 10 m. Batang masif, beruas, beralur, masih muda halus setelah tua kasar, diameter 2-5 mm, dari buku-buku dapat tumbuh akar coklat. Daun tunggal, berhadapan, bulat telur, panjang 5-9 cm, lebar 3-5 cm, tepi rata, ujung runcing, pangkal berlekuk, berambut, pertulangan menyirip, tangkai daun bulat, berbulu,

panjang 3-5 cm, diameter ± 2 mm, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, panjang 4-30 mm, kelopak segitiga, benang sari melekat pada tabung, bakal buah dua ruang, bakal biji satu kepala putik dua, bentuk benang sari, sering membelit, tabung mahkota bagian dalam berambut, bentuk kait, gundul, putih, mahkota panjang 10-12 mm, berbulu halus, ungu. Buah batu, bulat, mengkilap diameter 4-6 mm, kuning. Akar tunggang, coklat.

4. Habitat tanaman

Tanaman Sembukan tumbuh liar di lapangan terbuka, semak belukar atau tebing dengan ketinggian 1-1100 mdpl. Daun sembukan memiliki bau yang busuk bila diremas.

5. Kandungan kimia tanaman

Kandungan kimia yang terdapat dalam daun sembukan (*Paederia foetida* L.) adalah alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, glikosida, iridioid, triterpen, steroid, asperulin, aukobin dan asam oleanolat (Vikas *et al* 2009)

5.1. Saponin. Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama, mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Hartono 2009). Saponin merupakan senyawa bioaktif sebagai zat toksik termasuk dalam golongan racun kontak karena dapat masuk melalui dinding tubuh larva dan racun perut melalui mulut karena larva biasanya mengambil makanan dari tempat hidupnya. Saponin memiliki sifat seperti detergen sehingga dinilai mampu meningkatkan penetrasi zat toksik karena dapat melarutkan bahan lipofilik dalam air, juga dapat mengiritasi mukosa saluran pencernaan (Robinson 1995).

5.2. Flavonoid. Flavonoid berupa senyawa fenol karena warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia, sehingga mudah dideteksi pada kromatogram (Harbone 1987). Flavonoid mempunyai sifat khas yaitu bau yang tajam, rasanya pahit serta mudah terurai pada temperatur tinggi, merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan nyamuk dan juga bersifat toksik (Haditomo 2010). Diduga mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi (irreversible) sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Gunawan & Mulyani 2004). Flavonoid biasanya di alam berupa senyawa fenol yang dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri dari 2 gugus C₆ yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Senyawa ini dapat di ekstraksi dengan etanol 96% dan tetap dalam lapisan air (Robinson 1995).

5.3. Alkaloid. Alkaloid dalam tumbuhan umumnya terdapat sebagai garam, maka simplisia bisa langsung diekskresi dengan pelarut hidrofil (air, etanol) (Voigt 1995). Alkaloid adalah senyawa basa nitrogen organik yang terdapat pada tumbuhan. Adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, menyebabkan alkaloid bersifat basa (Nadjeeb 2009). Peran alkaloid dalam tumbuhan antara lain sebagai zat racun yang dapat melindungi tumbuhan dari gangguan hewan dan serangga (Mursyidi 1990).

6. Khasiat dan kegunaan

Daun Sembukan berkhasiat sebagai obat untuk antirematik, penghilang rasa sakit atau analgesik, peluruh kentut (karminatif), peluruh kencing, peluruh dahak (mukolitik), penambah nafsu makan (stomakik), antibiotik, antiradang, obat

batuk, dan pereda kejang. Selain itu juga dapat berperan sebagai obat radang usus (enteritis), bronkitis, tulang patah, keseleo, perut kembung, hepatitis, disentri, luka benturan, dan obat cacing (Utami 2008), mengatasi demam, masuk angin, rematik, herpes, disentri (Solikin 2007).

B. Nyamuk *Aedes aegypti*

1. Sistematika nyamuk

Dalam sistem klasifikasi, nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai penggolongan sebagai berikut (Sutanto *et al* 2009):

Divisi : Arthropoda
Classis : Insecta
Ordo : Diptera
Sub-ordo : Nematocera
Superfamili : Culicoidea
Famili : Culicidae
Sub-famili : Culicinae
Genus : *Aedes*
Spesies : *Aedes aegypti*

2. Morfologi

Nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai morfologi sebagai berikut:

2.1 Telur. Telur *Aedes aegypti* mempunyai dinding yang bergaris-garis dan menyerupai gambaran kain kasa.

2.2 Larva. Larva *Aedes aegypti* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

- a. Adanya corong udara pada segmen yang terakhir.
- b. Pada segmen abdomen tidak ditemukan adanya rambut-rambut berbentuk kipas (palmatus hairs).
- c. Pada corong udara terdapat pectin.
- d. Sepasang rambut serta jumbai akan dijumpai pada corong (siphon).
- e. Pada setiap sisi abdomen segmen ke delapan terdapat *comb scale* sebanyak 8 sampai 12 atau berjajar 1 sampai 3.
- f. Bentuk individu dari comb scale seperti duri.
- g. Pada sisi thorax terdapat duri yang panjang dengan bentuk kurva dan adanya sepasang rambut di kepala.

Ada 4 tingkatan perkembangan (instar) larva sesuai dengan pertumbuhan larva, yaitu:

- a. Larva instar I; berukuran 1-2 mm, duri-duri (spinae) pada dada belum jelas dan corong pernapasan pada siphon belum jelas.
- b. Larva instar II; berukuran 2,5-3,5 mm, duri-duri belum jelas, corong kepala mulai menghitam.
- c. Larva instar III; berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman.
- d. Larva instar IV; berukuran 5-6 mm dengan warna kepala gelap.

Larva mengalami empat kali pergantian kulit (instar) dan segera berubah menjadi pupa (Hadi & Koesharto 2006).

2.3 Pupa. Pupa berbentuk agak pendek, tidak makan, tetapi tetap aktif bergerak dalam air. Bentuk tubuh seperti koma, bersifat aktif dan sensitif terhadap

gerakan dan cahaya. Pupa berenang naik turun dari bagian dasar ke permukaan air. Pupa berukuran besar namun lebih ramping dibandingkan dengan pupa spesies nyamuk lain (Wulandari 2001).

2.4 Dewasa. Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berukuran lebih kecil jika dibandingkan dengan ukuran nyamuk rumah (*Culex quinquefasciatus*), mempunyai warna dasar hitam dengan bintik-bintik putih terutama pada kakinya ganda (Sutanto *et al* 2009). Toraks mempunyai gambaran bulan sabit yang dibentuk oleh sisik-sisik putih keperakan (Soedarto 2002). Jenis kelamin nyamuk *Aedes aegypti* dibedakan dengan memperhatikan jumlah probosis. Nyamuk betina mempunyai probosis tunggal, sedangkan nyamuk jantan mempunyai probosis ganda (Sutanto *et al* 2009).

3. Siklus hidup

Daur hidup nyamuk *Aedes aegypti* melalui metamorfosis sempurna yaitu telur, larva (beberapa instar), pupa, dan dewasa. Nyamuk *Aedes aegypti* meletakkan telur di atas permukaan air satu persatu. Seekor nyamuk betina dapat meletakkan rata-rata 1.000 butir telur tiap kali bertelur (Sutanto *et al* 2009). Telur dapat bertahan hidup dalam waktu yang cukup lama dalam bentuk dorman. Namun, bila air cukup tersedia telur akan menetas 2-3 hari setelah terkena air (Sembel & Dantje 2009).

Telur akan menetas menjadi larva (jentik). Posisi nyamuk jentik tersebut berada dalam air. Larva memiliki 4 stadium perkembangan yaitu larva instar I, larva instar II, larva instar III, dan larva instar IV. Larva instar I bentuknya kecil dan transparan, memiliki panjang 1-2mm, thorax dan spiral belum jelas dan sipon

belum hitam. Setelah 1-2 hari kemudian menjadi instar II. Larva instar II akan bertambah besar dan panjang nya 2-3mm, spiral belum jelas tetapi sipon sudah mulai berwarna hitam. Setelah 2-3 hari mengalami perubahan lagi menjadi instar III yang menjadi lebih panjang, spiral pada posisi thorax sudah jelas, sipon sudah lebih gelap dibandingkan abdomen dan thorax. Setelah 2-3 hari bentuk instar III mengalami perubahan menjadi instar IV dengan panjang 7-8mm, sipon pendek dan sangat gelap, kontras dengan warna tubuh (Mardihusodo 1992).



Gambar 1. Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* (Kardinan 2003)

4. Perilaku hidup

Aktivitas menggigit nyamuk pun berbeda beda, ada yang menghisap darah pada waktu malam hari, ada pula yang menghisap pada waktu siang hari. Nyamuk dewasa betina menghisap darah manusia pada siang hari, baik dalam rumah maupun di luar. Agar merasa kenyang nyamuk betina memerlukan 2-3 kali hinggap dan menghisap darah. Pada umumnya nyamuk betina hidup lebih lama daripada nyamuk jantan.

Hopes yang disukai nyamuk pun berbeda, ada yang mempunyai kebiasaan menghisap darah dari manusia (*antropofilik*) dan ada pula yang hanya menghisap darah dari binatang (*zoofilik*) (Gandahusada *et al* 1998).

Aedes aegypti biasanya menyukai tempat berupa semak-semak atau tanaman rendah termasuk rerumputan yang terdapat di halaman, kebun, atau pekarangan rumah, juga berupa benda-benda yang tergantung di dalam rumah seperti pakaian, sarung, kopiah, dan sebagainya. Umur nyamuk dewasa betina di alam bebas kira-kira 10 hari, sedangkan di laboratorium mencapai 2 bulan. *Aedes aegypti* mampu terbang sejauh 2 kilometer, walaupun umumnya jarak terbangnya adalah pendek, yaitu kurang lebih 40 meter (Sutanto *et al* 2009).

5. Epidemiologi

Menurut WHO (2010), penyebaran demam dengue di dunia masih terpusat di daerah tropis, meliputi Australia Utara bagian timur, Asia Tenggara, India dan sekitarnya, Afrika, Amerika Latin, dan sebagian Amerika Serikat. Namun, dengan adanya pemanasan global, dengue diperkirakan meluas sampai ke daerah-daerah beriklim dingin (Sembel & Dantji 2009). Kejadian DBD di dunia meningkat 30 kali lipat dalam 50 tahun terakhir. Diperkirakan 50 juta orang terinfeksi dengue setiap tahun, dan 2,5 miliar orang hidup di negara-negara endemik DBD (WHO 2010). Nyamuk *Aedes aegypti* tersebar luas di seluruh Indonesia. Walaupun spesies ini ditemukan di kota-kota pelabuhan yang penduduknya padat, nyamuk ini juga ditemukan di pedesaan, umurnya pendek yaitu kira-kira 10 hari, *Aedes aegypti* dapat menularkan virus dengue yang masa inkubasinya antara 3-10 hari (Sutanto *et al* 2009).

C. Demam Berdarah

Demam berdarah *dengue* (DBD) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* (arbovirus) yang masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (Suriadi *et al.* 2001). Penyakit ini masuk ke Indonesia tahun 1968 melalui pelabuhan Surabaya dan tahun 1980 telah dilaporkan tersebar luas di seluruh propinsi Indonesia. Penderita dapat mengalami syok dan meninggal. Sampai sekarang penyakit ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat (Sutanto *et al* 2009). Metode yang dikembangkan oleh WHO untuk menangani penyakit demam berdarah adalah dengan cara membasmi sumber penularannya yaitu larva nyamuk (Moerid & Losung 2013).

Gejala klinik DBD yang biasa ditimbulkan berupa demam tinggi yang berlangsung secara terus menerus selama 2-7 hari dan manifestasi pendarahan yang didahului dengan terlihatnya tanda khas berupa bintik-bintik merah (petechia) pada bagian tubuh penderita (Gandahusada *et al* 1998).

D. Larvasida

Menurut Sudarmo (1989) larvasida merupakan golongan dari pestisida yang dapat membunuh serangga belum dewasa atau sebagai pembunuh larva. Larvasida berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari 2 suku kata, yaitu Lar berarti serangga belum dewasa dan Sida berarti pembunuh. Jadi larvasida dapat diartikan sebagai pembunuh serangga yang belum dewasa atau pembunuh ulat (larva). Pemberantasan nyamuk menggunakan larvasida merupakan metode terbaik untuk mencegah penyebaran nyamuk. Parameter aktivitas larvasida suatu

senyawa kimia dilihat dari kematian larva (Wibowo *et al* 1997). Senyawa bersifat larvasida juga bisa digunakan sebagai sediaan insektisida untuk membasmi serangga yang belum dewasa dan serangga dewasa.

Larvasida adalah insektisida yang digunakan untuk membunuh stadium larva. Suatu larvasida yang baik memiliki sifat sebagai berikut: memiliki daya bunuh yang besar dan cepat, tidak berbahaya bagi manusia, harganya murah dan mudah didapat dalam jumlah yang banyak, memiliki susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar, mudah dipakai, dapat dicampur dengan berbagai macam bahan pelarut, tidak berwarna (Gandahusada *et al* 1998).

Menurut cara masuknya ke dalam tubuh serangga, larvasida dibagi menjadi racun kontak, yaitu masuk melalui *eksoskelet* ke dalam tubuh serangga dengan perantara tarsus (jari-jari kaki serangga) pada saat hinggap di permukaan yang mengandung residu insektisida. Racun perut, yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui sistem pernapasan atau melalui permukaan kulit serangga (Gandahusada *et al* 1998).

E. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia segar dan simplisia nabati. Simplisia segar adalah bahan segar yang belum dikeringkan, sedangkan simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (KeMenKes 2010). Eksudat tumbuhan ialah 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 (Depkes RI 1995 dalam Saifudin *et al* 2011). Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Didik & Mulyani 2004).

F. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995). Ada beberapa jenis ekstrak yakni: ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt 1994). Faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi: spesies tumbuhan, lokasi tumbuh, waktu pemanenan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan. Sedangkan faktor kimia yaitu: faktor internal (jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif) dan faktor eksternal (metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi, ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang

digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, kandungan pestisida) (Depkes RI 2000).

G. Metode Penyarian Simplisia

1. Penyarian

Penyarian adalah peristiwa pemindahan masa. Zat aktif yang awalnya berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif di dalam cairan penyari tersebut. Umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari lebih luas. Metode penyarian adalah maserasi, pemilihan metode di atas dilakukan agar mendapatkan hasil yang baik (Depkes 1986).

2. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian serbuk simplisia dengan cara menempatkannya dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut, lalu dibiarkan berada pada suhu kamar selama minimal 3 hari sambil sering diaduk sampai larut. Maserasi disaring dan diambil maseratnya (Handa *et al* 2008).

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah

mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak, dan lain-lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserakai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 3 hari. Kemudian endapan dipisahkan (Depkes RI 1986)

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang lain. Pemisahan kandungan kimia ini berdasarkan polaritas atau sifat kelarutannya yang berbeda-beda pada jenis tumbuhan. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Susilowati 2010).

4. Pelarut

Larutan penyari yang digunakan harus mencapai seluruh serbuk dan secara terus menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi lebih tinggi untuk keluar (Depkes 1989). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor, cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan

mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik saat berhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat yang berhasiat (Darwin 2000).

4.1.Etanol. Etanol merupakan cairan jernih yang tidak berwarna dengan bau khas (Shakhashiri 2009). Etanol dapat dipilih sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, netral, tidak beracun, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan lebih sedikit. Untuk meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dengan air (Depkes 1986).

4.2.Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap. Etil asetat merupakan cairan jernih dan tidak berwarna, memiliki bau yang khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan eter, etanol, dan kloroform (Depkes 1986). Senyawa yang larut ke dalam pelarut ini adalah flavonoid, dapat melarutkan air hingga 3% (Harbone 1987).

4.3.N heksana. N heksana merupakan pelarut bersifat nonpolar yang dapat melarutkan senyawa senyawa nonpolar, hasil penyulingan dari minyak tanah yang sudah bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan benzene, kloroform, alkohol, dan eter. Uapnya mudah meledak bila berikatan dengan udara, sebaiknya disimpan pada tempat yang dingin (Depkes 1985).

4.4.Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut universal, digunakan untuk ekstrak tanaman produk aktivitas antimikroba. Penggunaan air sebagai cairan

penyari kurang menguntungkan karena zat aktif ikut tersari sehingga zat lain yang diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al* 2011).

H. Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu molekul atau senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerusakan pada bagian yang peka didalam maupun dibagian luar tubuh mahluk hidup (Durham 1975). Suatu senyawa kimia dapat dikatakan sebagai racun jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek yang merusak. Efek yang ditimbulkan sangat tergantung dengan kadar racun (toksin) yang diberikan dengan dilakukan pengukuran besarnya kadar atau konsentrasi bahan yang dapat menimbulkan pengaruh pada organisme uji (Loomis 1978).

Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis. Toksisitas akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal dalam 24 jam setelah pemaparan. Toksisitas akut bersifat mendadak, waktu singkat, biasanya reversibel. Uji toksisitas atas dasar dosis dan waktu spesifik toksisitas akut. Dosis merupakan jumlah racun yang masuk ke dalam tubuh. Besar kecilnya dosis menentukan efek secara biologi (BPOM 2000, Verma 2008).

Uji toksisitas pada penelitian ini adalah uji toksisitas akut pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III menggunakan parameter LC_{50} dengan analisis probit *Lethal Concentration* (LC_{50}) adalah rata rata konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva pada jangka waktu pemakaian tertentu (Harmita & Radji 2005). Untuk mengetahui nilai LC_{50} digunakan uji statik. Ada dua tahapan dalam

penelitian, yaitu uji pendahuluan., untuk menentukan batas kritis konsentrasi yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar mendekati 50% dan kematian terkecil mendekati 50%. Uji Lanjutan., setelah diketahui batas kritis, selanjutnya ditentukan konsentrasi akut berdasarkan seri logaritma konsentrasi (Pradipta 2007).

I. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisika kimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir butir (fase diam) yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal), setelah pelat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl 1985).

Fase diam dipengaruhi oleh daya letal pada pendukung, sifat homogenitas dan besar kecilnya partikel. Fase diam yang biasa digunakan adalah silika gel, tetapi lapisan dapat pula dibuat dari alumunium oksida, kalsium, hidroksida, dapar penukar ion, magnesium fosfat, polivinil, poliamid, pirolidol, kieselguhr, selulosa, dan campuran dua bahan diatas atau lebih (Harbone 1987).

Fase gerak merupakan medium angkut dan terdiri dari satu atau lebih pelarut. Fase gerak bergerak dalam fase diam yang merupakan lapisan erpri karena adanya gaya gerak kapiler (Stahl 1985).

Pengembangan dilakukan dalam bejana yang ruangnya jenuh dengan pelarut pengembang. Bagian dalam bejana dilapisi dengan kertas saring dan pelarut pengembang dituangkan setinggi kertas saring basah, dan tinggi pelarut pengembang tersebut dalam bejana mencapai 1 cm dari dasarnya (Auterhoff 1987).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatografi biasanya dinyatakan dengan angka R_f / hR_f . Angka R_f berjarak antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal.

$$R_f = \frac{\text{Jarak bercak dari titik awal}}{\text{jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

hR_f adalah angka R_f dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100 (Stahl 1985).

Hasil pemeriksaan yang diperoleh diidentifikasi di bawah lampu UV (254 dan 366 nm), ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi. Jika tidak tampak dengan cara di atas, maka dilakukan dengan penyemprotan atau diuapi pereaksi yang sesuai (Auterhoff 1987).

J. Landasan Teori

Demam berdarah *dengue* (DBD) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* (arbovirus) yang masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (Suriadi *et al.* 2001). Merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* dengan manifestasi klinis berupa pendarahan dan menimbulkan syok yang dapat berakibat kematian (Djallaludin *et al.* 2004).

Indonesia memiliki flora yang sangat beragam, memiliki cukup banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan. Pada penelitian yang telah dilakukan Parwanto dan Wibowo (2015) pada fraksi daun sembukun dapat disimpulkan bahwa skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan fraksi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, dan terpenoid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana daun sembukun memiliki potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina*. Selain itu Sukorini (2003) dalam penelitiannya menguji pengaruh daun sembukun sebagai pestisida organik pada hama *Plutella xylostella* dengan kandungan zat aktif saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin yang diduga dapat menghambat perkembangan *Plutella xylostella*.

Berdasarkan beberapa penelitian pada daun sembukun dengan yang telah diuji toksisitasnya pada beberapa penelitian, memiliki efek dan aktivitas sebagai racun dan diduga memiliki efek toksik. Maka penelitian ini memanfaatkan tanaman sembukun yang diambil pada bagian daunnya dan diharapkan memiliki efek toksik pada larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan tujuan dapat digunakan sebagai larvasida alami yang tidak menimbulkan bahaya, lebih ramah lingkungan, dan lebih efektif.

Metode yang digunakan dalam penyarian ekstrak daun sembukun adalah maserasi dilarutkan dengan fraksinasi. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu senyawa berdasarkan kepolarannya. Pemisahan jenis dan jumlahnya menjadi fraksi yang berbeda. Pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, awalnya disari dengan pelarut yang nonpolar, kemudian disari dengan pelarut yang kurang polar dan terakhir di sari dengan pelarut polar (Harbone 1987).

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas larva suatu senyawa pada nyamuk *Aedes aegypti* instar III, dianalisis dengan menghitung harga LC_{50} yang merupakan suatu ukuran untuk mengukur daya racun dari jenis pestisida. LC_{50} adalah ppm atau persen konsentrasi dari suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan percobaan.

Pemilihan nyamuk *Aedes aegypti* instar III didasarkan pada fungsi dan bentuk organ yang hampir sempurna, memiliki spiral pada sisi thorax sudah jelas, sipon sudah lebih gelap dibandingkan abdomen dan thorax sehingga dapat lebih mudah untuk diamati dibanding instar yang lain.

K. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu: pertama, ekstrak dan fraksi daun semburan (*Paederia foetida* L) mempunyai aktivitas sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, pada konsentrasi tertentu ekstrak dan fraksi daun sembukan (*Paederia foetida* L) memiliki aktivitas paling baik sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dilihat dari nilai LC₅₀.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman sembukun (*Paederia foetida* L) yang diperoleh dari desa Purwosari, Sleman, Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman sembukun (*Paederia foetida* L). Daun yang diambil berwarna hijau, baik daun muda maupun daun tua, tidak terserang hama dan tidak cacat.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama adalah serbuk daun sembukun (*Paederia foetida* L) yang dimaserasi dengan etanol 96% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan n-heksana sebagai pelarut nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semipolar dan air sebagai pelarut polar. Variabel utama yang kedua adalah aktivitas larvasida pada larva 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 fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L) dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah batas waktu pengamatan, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, metode maserasi dan metode fraksinasi.

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

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun sembukan adalah daun dari tanaman sembukan (*Paederia foetida* L).

Kedua, serbuk daun sembukan adalah daun sembukan yang sudah dicuci bersih menggunakan air mengalir sampai terbebas dari kotoran kemudian dikeringkan dengan oven selama 24-48 jam dengan suhu 40-45°C sampai kadar air kurang dari 10% lalu diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun sembukan dalam etanol 96% adalah hasil ekstraksi serbuk daun sembukan dengan menggunakan serangkaian alat maserasi dengan menggunakan penyari etanol 96% dengan cara dimaserasi kemudian dipisahkan dengan *vacuum evaporator*.

Keempat, fraksi n-heksana adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun sembukan dengan menggunakan n-heksana sebagai pelarut nonpolar, kemudian

dipekatkan menggunakan *vacuum evaporator* sehingga didapatkan fraksi n-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun sembuk dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semipolar, kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum evaporator* sehingga didapatkan fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah residu dari fraksinasi etil asetat yang dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan sehingga didapatkan fraksi air.

Ketujuh, hewan uji yang digunakan adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III .

Kedelapan, tingkat kematian adalah banyaknya larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati dalam berbagai konsentrasi ekstrak dan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sembuk, kemudian menghitung jumlah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*.

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

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi oven, penggilingan, ayakan, *blender*, mortir, neraca elektrik, *beaker glass*, gelas ukur, labu takar, tabung reaksi, corong pisah, botol maserasi, timbangan analitik, statif, kertas saring, *vacuum evaporator*, corong kaca, spatel, batang pengaduk, wadah plastik,

kaca pembesar, pipet volume, pinset, cawan penguap, bejana, *stopwatch*, lempeng.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sembukan (*Paederia foetida* L), larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, n-heksana, etil asetat, aquadest, etanol 96%, abate, tween 80, asam klorida, reagen dragendorf, sitoburat, serbuk Mg, pelarut amil alkohol, quinin, quersetin, asam asetat, asam sulfat, alkohol, asam formiat, kloroform, butanol, asam asetat glasial, metanol, diklomertan, dietilamin, pereaksi Lieberman Bouchat, silika gel.

D. Tahapan Penelitian

1. Determinasi dan Identifikasi Tanaman Sembukan

Determinasi tanaman yang dilakukan dalam penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun sembukan dengan mencocokkan ciri mikroskopis dan makroskopis nya, serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun sembukan (*Paederia foetida* L) dengan acuan buku, serta dibuktikan di Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan Bahan

Daun sembukan (*Paederia foetida* L) diambil dari desa Purwosari, Sleman, Jawa Tengah, daun sembukan diambil dalam keadaan segar dan pengambilan secara acak.

3. Pembersihan dan Pengeringan Bahan

Daun sembukan (*Paederia foetida* L) yang sudah dipetik dicuci bersih dengan air mengalir hingga terbebas dari kotoran dan debu. Selanjutnya dipotong

kecil-kecil untuk memudahkan proses pengeringan. Daun sembukan yang telah bersih kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°-45° C, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40 sampai serbuk terayak habis dan didapat serbuk daun dari tanaman sembukan yang diinginkan, kemudian dilakukan prosentase bobot kering terhadap bobot basah. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan dalam penelitian.

4. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Serbuk Daun Sembukan (*Paederia foetida* L)

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan sembukan (*Paederia foetida* L) bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam daun sembukan adalah sebagai berikut :

4.1 Penyiapan sampel. Serbuk daun sembukan di tambah 100 ml air panas kemudian didihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A (Depkes 1977).

4.2 Identifikasi saponin. Serbuk daun sembukan dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian 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).

4.3 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 gram serbuk daun sembukan ditambah 100 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 menjadi 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.

4.4 Identifikasi flavonoid. 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 kemudian biarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977).

5. Penetapan Kandungan Lembab Daun Sembukan (*Paederia foetida* L)

Penetapan kandungan lembab serbuk daun sembukan yang dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, dengan cara masing-masing ditimbang 2 g, kemudian masing-masing diukur kandungan lembab serbuk dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, waktu yang diperlukan dalam pengukuran adalah selama 4 menit untuk setiap pengukuran sampel, kemudian ditunggu sampai muncul angka dalam persen.

6. Tes Bebas Etanol

Tes bebas etanol ekstrak daun sembukan dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak daun sembukan ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak ada etanol lagi (Praeparandi 1978).

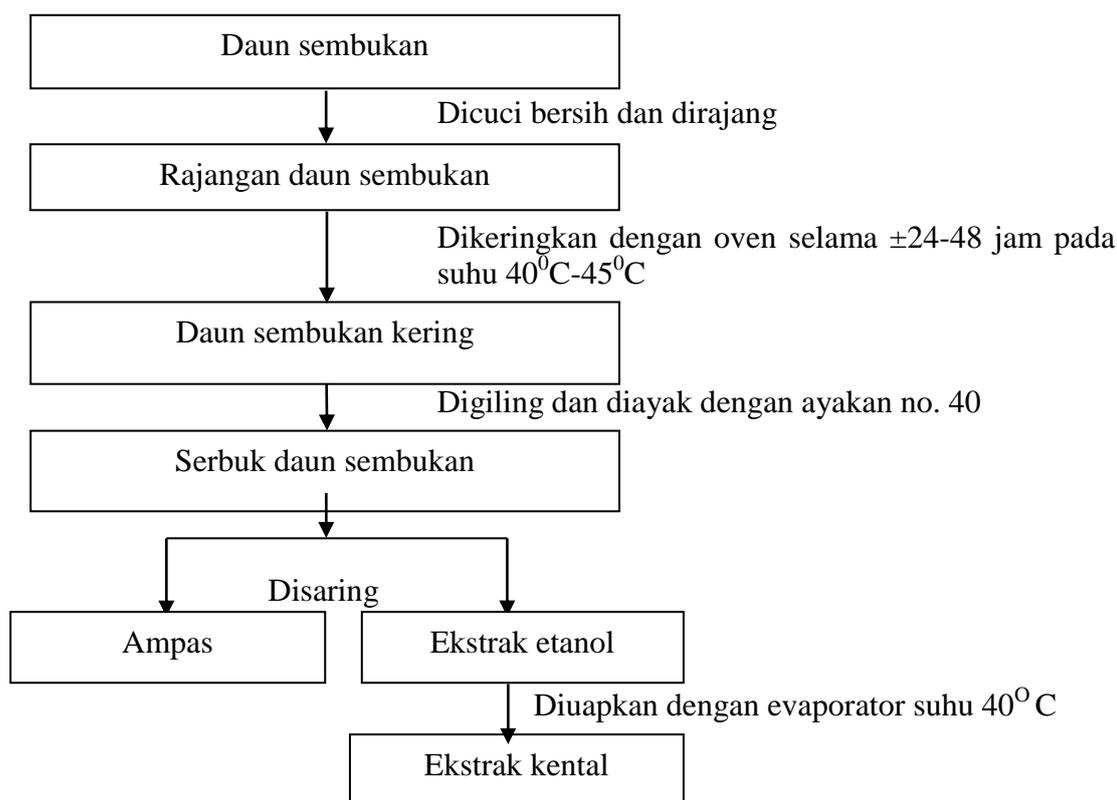
7. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembukan (*Paederia foetida* L)

Pembuatan ekstrak etanol daun sembukan dilakukan dengan metode maserasi, dengan cara: di ambil serbuk daun sembukan kemudian dimaserasi

dengan etanol lalu dimasukkan dalam botol bejana sambil sesekali diaduk dan selanjutnya disaring dengan penyaring vakum. Maserasi dilakukan pada temperatur 15-20⁰C selama 5 hari.

Campuran serbuk dan etanol 96% dihomogenkan dan disimpan terlindung dari sinar matahari atau cahaya langsung. Sari daun sembukan kemudian disaring dengan kertas saring dan filtratnya diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40⁰C.

Penguapan ini agar etanol dapat menguap pada suhu jauh dibawah titik didihnya dan diharapkan kandungan senyawa yang ada pada ekstrak etanol tidak rusak. Skema pembuatan dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun sembukan

8. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun sembukun (*Paederia foetida* L)

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui kebenaran kandungan kimia yang terkandung di dalam ekstrak etanolik daun sembukun. Identifikasi senyawa-senyawa kimia meliputi: flavonoid, saponin, dan alkaloid yang akan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi dengan menggunakan metode tabung.

8.1. Penyiapan sampel. Ekstrak daun sembukun ditambah dengan 100 ml air panas, kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas. Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan sampel.

8.2. Pemeriksaan flavonoid. Diambil 5ml larutan sampel sampai dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol:asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan beberapa saat hingga memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

8.3. Pemeriksaan alkaloid. Sebanyak 1 gram ekstrak daun sembukun ditambah 100 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 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.

8.4. Pemeriksaan saponin. Ekstrak 0,5 g dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif bila terbentuk buih mantap selama tidak kurang 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm. Buih tidak hilang jika ditambah asam klorida.

9. Fraksinasi Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia foetida* L)

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun sembukan kemudian dilarutkan dengan pelarut aquadest 100 ml, difraksi 3 kali dengan pelarut n-heksana masing-masing 100 ml menggunakan corong pisah. Fraksi n-heksana yang didapat kemudian diuapkan dengan *vacuum evaporator*. Fraksi n-heksana yang kental ini disebut fraksi pekat n-heksana. Lapisan sisa fraksinasi yang didapat dari fraksi n-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 100 ml menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat yang didapat, dikumpulkan kemudian diuapkan dengan *vacuum evaporator*. Sehingga didapatkan fraksi pekat etil asetat. Residu hasil partisi dari etil asetat kemudian dikumpulkan dan dipekatkan., hasil yang diperoleh disebut fraksi air. Skema pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat dan air dapat dilihat pada gambar 3.

10. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Fraksi Daun Sembukan (*Paederia foetida* L) Secara KLT

10.1 Penyiapan sampel. Timbang hasil fraksi etil asetat dan dilarutkan dengan etil asetat yang disebut sebagai sampel A. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah Silika gel F254 ukuran $10 \times 3 \text{ cm}^2$ yang kemudian dipotong sesuai kebutuhan, sedangkan fase gerak dan penampak noda yang digunakan sebagai berikut.

10.2 Identifikasi senyawa golongan alkaloid. Fase gerak: diklormetan:dietilamin (9:1). Penampak noda adalah pereaksi Dragendorff. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia, di bawah lampu UV 365 nm, alkaloid akan berfluoresens biru, biru-hijau atau ungu (Wagner 1996).

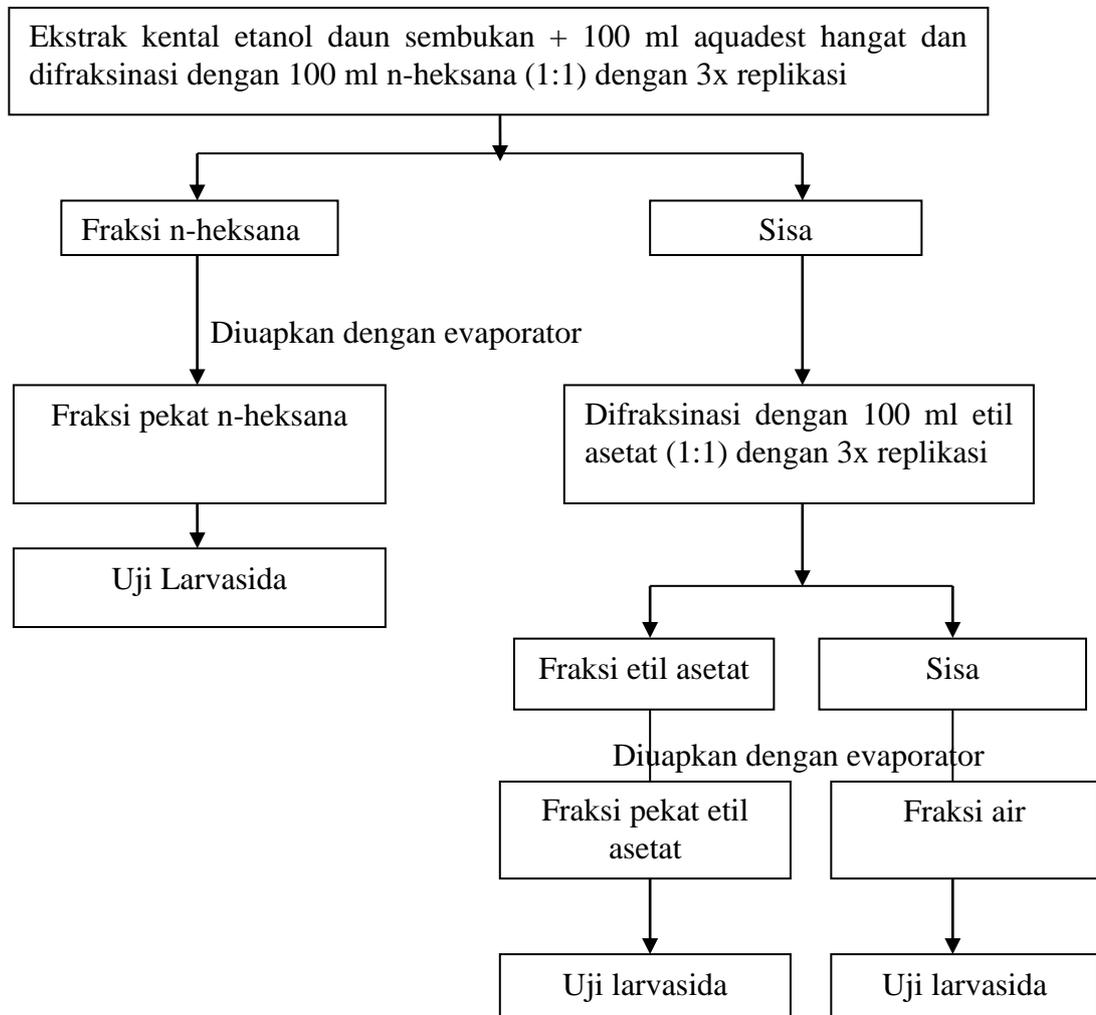
10.3 Identifikasi senyawa golongan saponin. Menggunakan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak kolorofom : metanol : air (64 : 50 : 1), di beri pereaksi Lieberman Bouchard mneghasilkan warna coklat pada sinar tampak sedangkan pada UV 366 nm terjadi warna coklat gelap dan UV 254 nm terjadi warna kuning (Harbone 1987)

10.4 Identifikasi senyawa golongan flavonoid. Menggunakan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak: heksana:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2). Fase gerak ini terdiri dari 2 lapisan, lapisan atas diambil dan digunakan sebagai fase gerak. Penampak noda: sitroborat, jika timbul warna kuning atau kuning kuning-coklat setelah pemberian sitroborat menunjukkan adanya flavonoid. Bila tanpa pereaksi kimia, dibawah lampu UV 365 nm, flavonoid akan berfluorensens biru, kuning atau hijau, tergantung dari strukturnya (Wagner 1996).

11. Preparasi Sampel Larutan Uji

Masing-masing fraksi yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak etanol 70% daun sembukan disuspensikan dalam aquadest yang telah ditambah pelarut tween 80 untuk memudahkan pelarutannya dalam air sehingga dalam 100 ml pelarut mengandung 0,1 gram fraksi (1000 ppm) yang disebut sebagai larutan induk. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan menjadi 3 seri konsentrasi (400

ppm, 800 ppm, 1200 ppm) dalam labu takar 50 ml dengan penambahan larutan aquadest hingga tanda batas, larutan ini disebut larutan uji.

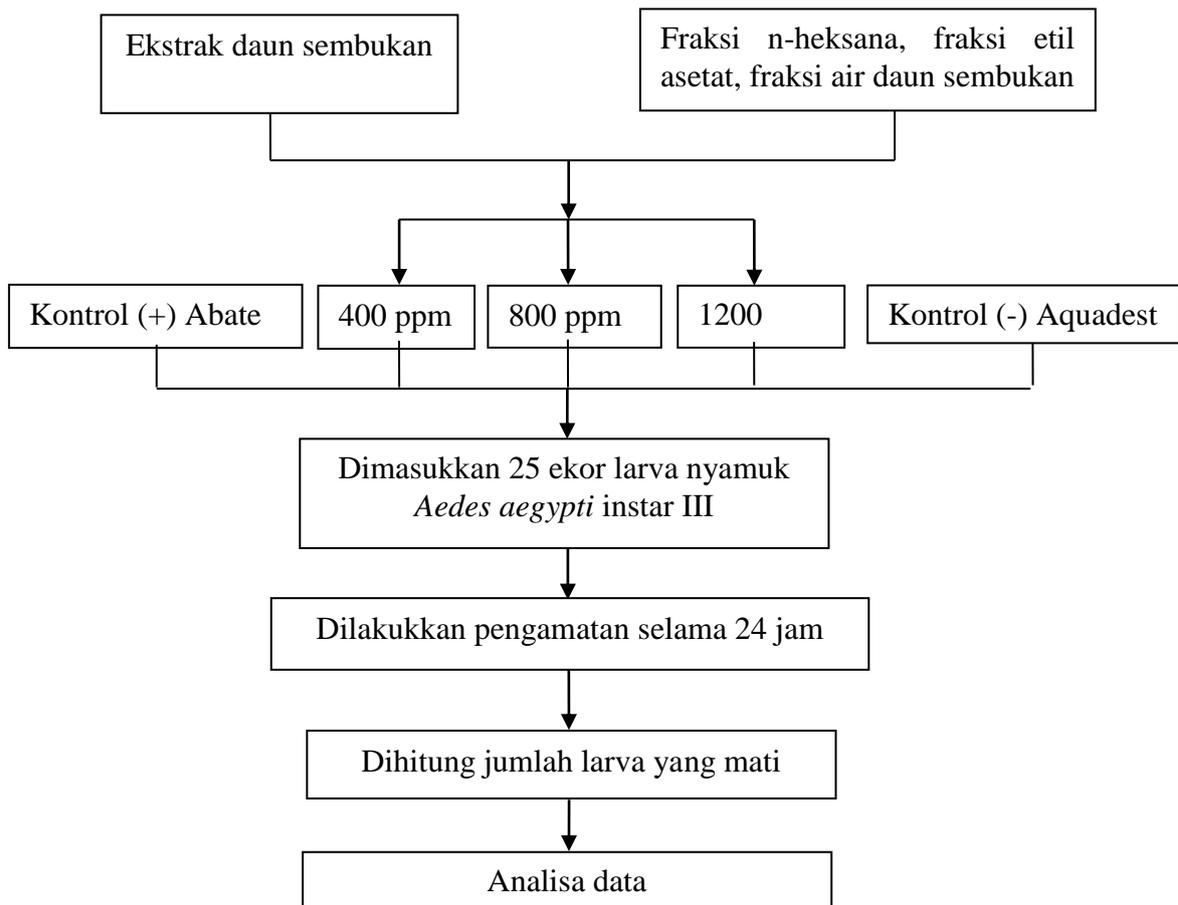


Gambar 3. Skema pembuatan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

12. Uji Aktivitas Larvasida

Larutan uji dimasukkan dalam mangkok yang setiap seri konsentrasi telah 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 positif disiapkan dengan cara melarutkan Abate sebanyak 10 mg dalam 100 ml air sehingga didapatkan konsentrasi Abate 100 ppm, sebagai kontrol negatif digunakan Tween 80 sebanyak 1 ml dan ditambah Aquadest sampai 100 ml. Selanjutnya pada setiap seri konsentrasi dimasukkan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III dan diamati jumlah larva yang mati setelah 24 jam perlakuan dihitung dan ditentukan persen mortalitas larvanya kemudian dicari nilai probit dengan menggunakan tabel konversi untuk menghitung LC_{50} . Skema uji aktivitas larvasida dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Skema uji aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

13. Penetapan LC₅₀

LC₅₀ merupakan konsentrasi fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sembung yang dapat mematikan 50% larva *Aedes aegypti* instar III dalam waktu 24 jam dari saat dimasukkannya larutan uji ke dalam masing-masing wadah plastik yang berisi air dan larva yang telah disiapkan. LC₅₀ masing-masing konsentrasi ditetapkan dengan menggunakan metode analisa probit. Jumlah larva yang mati setelah 24 jam perlakuan, ditentukan persen mortalitasnya menggunakan rumus *Abbot* (Fitri dan Yasmin 2010) :

$$Po = \frac{r}{n} \times 100 \%$$

Keterangan :

Po = Mortalitas larva (%)

r = Jumlah larva yang mati

n = Jumlah keseluruhan larva yang diamati

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 LC₅₀.

14. Analisis data

Data kematian larva yang diperoleh dianalisis dengan metode analisa probit untuk mendapatkan harga LC₅₀. Data harga LC₅₀ yang didapatkan, dimasukkan tabel untuk diuji kemaknaannya dengan Anova (*Analysis of Variance*). Pengolahan data menggunakan fasilitas SPSS 17 for windows.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Tanaman Sembukan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sembukan yang telah dideterminasi di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yaitu 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-21a-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28a-29b-30b-31b-403b-404b-405a-406a-409a-410b-414a-415a-416a-417a-418a-419a. Familia 162. Rubiaceae. 1a-2b-4c-10b-13b-14b-15b-16b-17b-18b-19b-20b-21b-38a-39a-45b-48b-49a-59. Paederia. 1b. *Paederia foetida* Auct. non.L.,Sinonim; *P. tomentosa* Bl., *P. scandens* (Lour.) Merr.

Determinasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti dan mengetahui kebenaran tanaman yang diambil dari desa Purwosari, Sleman, Yogyakarta untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan. Berdasarkan hasil determinasi ini dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman sembukan (*Paederia foetida* L). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan Bahan

Daun sembukan yang digunakan diambil dari diambil dari desa Purwosari, Sleman, Yogyakarta. Daun sembukan diambil dalam keadaan segar dan pengambilan secara acak. Daun yang diambil untuk penelitian adalah daun yang tergolong muda.

3. Hasil Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Sembukan

3.1 Pengeringan daun sembukan. Daun sembukan dikeringkan dalam oven dengan tujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri yang menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Bahan yang telah kering mempermudah proses penyerbukan.

3.2 Hasil pembuatan serbuk daun sembukan. Daun sembukan yang telah dikeringkan digiling kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no 40. Dihitung bobot kering terhadap bobot basah serbuk sembukan dapat dilihat pada tabel 1. Penyerbukan ini dimaksudkan memperkecil ukuran bahan, memperluas permukaan partikel dengan pelarut sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung efektif.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun sembukan (*Paederia foetida* L)

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000	612	12,24

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa persentase hasil pengeringan daun sembukan didapat 12,24%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 13.

4. Hasil Penetapan Kadar Kelembababan Daun Sembukan

Penetapan kadar kelembaban daun sembukan dengan cara serbuk ditimbang 2 g sebanyak tiga kali, kemudian masing-masing diukur kandungan lembab serbuk dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, waktu yang diperlukan dalam pengukuran adalah selama 4 menit untuk setiap pengukuran sampel, kemudian ditunggu sampai muncul angka dalam persen. Tujuan dari penetapan kadar kelembaban ini adalah agar mutu dan khasiat daun sembukan tetap terjaga. Kadar kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan serbuk tanaman mudah

ditumbuhi jamur dan bakteri. Kadar kelembaban serbuk daun semburan dapat dilihat pada tabel 2. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 2. Hasil penetapan kandungan lembab daun semburan (*Paederia foetida* L)

Replikasi	Bobot awal (g)	Bobot setelah pengeringan (g)	Susut pengeringan (%)
1	2	1,83	8,5
2	2	1,85	7,5
3	2	1,83	8,5
Rata-rata			8,17± 0,5787

Dari hasil penetapan kandungan lembab daun semburan dapat dilihat pada tabel 2 bahwa daun semburan mengalami penyusutan dengan rata-rata sebesar 8,17% ± 0,5787 %. Kadar kandungan lembab kurang dari 10 % dapat menghentikan proses enzimatis dalam sel, sehingga serbuk bisa menjadi lebih lama disimpan karena kandungan lembab yang rendah dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Depkes 1979).

5. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Serbuk dan Ekstrak Daun Sembukan

Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia daun semburan

Kandungan	Prosedur	Pustaka	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	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 kemudian biarkan memisah.	Adanya warna merah atau kuning atau jingga (Depkes 1977)	Adanya warna jingga +	Adanya warna jingga +
Saponin	Serbuk daun semburan dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok 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).	Terbentuk buih yang stabil +	Terbentuk buih yang stabil +
Alkaloid	Serbuk + air panas, dinginkan dan disaring filtrat+1ml HCL2N+2-4 tetes reagen Dragendrof	Adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat (Depkes 1977).	Adanya endapan kecoklatan +	Adanya endapan kecoklatan +

Hasil identifikasi yang dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun sembukan menunjukkan hasil bahwa daun sembukan memiliki kandungan kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin. Gambar identifikasi serbuk dan ekstrak daun sembukan dapat dilihat pada lampiran 8.

6. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembukan

Pembuatan ekstrak etanol daun sembukan dilakukan dengan metode ekstraksi yaitu maserasi dan pelarut etanol 96%. Keuntungan metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah digunakan. Ekstrak hasil maserasi tidak merusak kandungan senyawa tanaman yang tidak tahan panas. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar. Maserasi dilakukan selama 2 hari dengan asumsi kandungan kimia yang akan diambil sudah terekstraksi semua, sesekali digojok. Penggojokan dilakukan 1 kali dalam sehari selama 15 menit. Hasil ekstraksi disaring kemudian dipekatkan dengan *vacum evaporator* sampai bebas etanol dan untuk mencegah terurainya atau rusaknya senyawa aktif yang tidak tahan suhu tinggi. Didapat persentase rata-rata bobot ekstrak maserasi daun sembukan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun sembukan

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
600	51,99	8,66

Rendemen ekstrak etanol daun sembukan yang diperoleh adalah 8,66%. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air untuk mendapatkan senyawa yang mempunyai aktivitas larvasida. Pelarut *n*-Heksana sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan air sebagai

pelarut polar. Hasil perhitungan rendemen ekstrak sembukan dapat dilihat pada lampiran 15.

7. Hasil Tes Bebas Etanol Ekstrak Daun Sembukan

Tes bebas etanol pada ekstrak daun sembukan ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji. Dalam tabel menunjukkan bahwa ekstrak dari daun sembukan bebas dari etanol 96% yang digunakan sebagai pelarutnya sehingga ekstrak dapat digunakan lebih lanjut dalam penelitian.

Tabel 5. Hasil tes bebas etanol

Tes bebas alkohol	Hasil uji
Ekstrak daun sembukan + H ₂ SO ₄ +CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester

8. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia foetida* L)

Fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun sembukan dari ekstrak etanol diuapkan di penangas air hingga diperoleh fraksi pekat. Fraksinasi menggunakan air sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar, hasil fraksinasi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Presentase rendemen fraksi n-heksana, etil asetat, air dari ekstrak daun sembukan

Berat ekstrak etanolik (g)	Fraksi	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
50	N-heksana	14,84	29,69
50	Etil asetat	16,84	33,68
50	Air	22,68	45,36

Rendemen fraksi *n*-heksana daun sembukan adalah 29,69%, rendemen hasil fraksi etil asetat adalah 33,68%, rendemen fraksi air adalah 45,36%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 16.

9. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Fraksi Daun Sembukan

Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT) dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembukan yaitu :

Tabel 7. Hasil identifikasi flavonoid daun sembukan dengan uji KLT

Pengujian	Hasil Rf					Pustaka (Wagner 1984)
	Rf Sampel	Rf pembanding (Quersetin)	UV 254	UV 366	Semprot sitroborat	
Fraksi n-heksana	0,7777	0,2555	(-)	(-)	(-)	Berfluorensens biru,kuning, kuning-coklat
Fraksi etil asetat	0,7000	0,2555	(+)	(+)	(+)	Berfluorensens biru,kuning, kuning-coklat
Fraksi air	0,2666	0,2555	(-) Kuning	(-) Berfluorensens biru	(-) Kuning-coklat	Berfluorensens biru,kuning, kuning-coklat

Tabel 7 menunjukkan hasil identifikasi senyawa flavonoid dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun sembukan bersifat positif pada fraksi etil asetat dan memiliki aktivitas larvasida, sedangkan pada fraksi n-heksana dan fraksi air bersifat negatif. Seharusnya senyawa flavonoid bersifat positif pada fraksi etil asetat (semi polar) dan air (polar) karena daun sembukan memiliki kandungan glikosida atau glikon yang memiliki sifat larut dalam air dan sedikit larut dalam etil asetat. Sedangkan pada n-heksana tidak larut. Hal ini terjadi karena fase gerak yang digunakan lebih eluen ke semi polar sehingga fraksi air yang bersifat polar tidak dapat berpendar. Perhitungan Rf identifikasi kandungan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembukan secara kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 8. Hasil kandungan saponin daun sembukan dengan uji KLT

Pengujian	Hasil Rf					Pustaka (Wagner 1984)
	Rf Sampel	Rf pembanding (Saponin)	UV 254	UV 366	Semprot Lieberman	
Fraksi n-heksana	0,9500	0,9125	(+) Kuning	(+) Berfluorensens Coklat gelap	(+) Coklat	Berfluorensens kuning, coklat gelap,coklat
Fraksi etil asetat	0,9750	0,9125	(+) Kuning	(+) Berfluorensens Coklat gelap	(+) Coklat	Berfluorensens kuning, coklat gelap,coklat
Fraksi air	0,9625	0,9125	(+) Kuning	(+) Berfluorensens Coklat gelap	(+) Coklat	Berfluorensens kuning, coklat gelap,coklat

Tabel 8 menunjukkan hasil identifikasi senyawa saponin dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun sembukan bersifat positif dan memiliki aktivitas larvasida. Perhitungan Rf identifikasi kandungan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembukan secara kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 9. Hasil kandungan alkaloid daun sembukan dengan uji KLT

Pengujian	Hasil Rf					Pustaka (Wagner 1984)
	Rf Sampel	Rf pembanding (Quinin)	UV 254	UV 366	Semprot sitroborat	
Fraksi n-heksana	0,9500	0,4375	(+) Coklat	(+) Berfluorensens biru	(+) Coklat	Berfluorensens coklat, biru-hijau, ungu
Fraksi etil asetat	0,9625	0,4375	(+) Coklat	(+) Berfluorensens biru	(+) Coklat	Berfluorensens coklat, biru-hijau, ungu
Fraksi air	0,7375	0,4375	(+) Coklat	(+) Berfluorensens biru	(+) Coklat	Berfluorensens coklat, biru-hijau, ungu

Tabel 9 menunjukkan hasil indentifikasi senyawa alkaloid dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun sembukan bersifat positif dan memiliki aktivitas larvasida. Perhitungan Rf identifikasi kandungan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembukan secara kromatografi lapis tipis dilihat pada lampiran 12.

10. Hasil Preparasi Sampel Larutan Uji

Preparasi larutan uji dari ekstrak dan fraksi daun sembukan dibuat menjadi larutan stok kemudian dibuat 3 seri konsentrasi. Hasil preparasi larutan stok dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil preparasi larutan stok dari ekstrak dan fraksi daun sembukan

No	Konsentrasi larutan uji (ppm)	Volume pemipetan larutan iduk (ml)	Volume tiap konsentrasi(ml)
1	400	20	50
2	800	40	50
3	1200	60	50

11. Hasil Uji aktivitas larvasida

Pengamatan uji aktivitas larvasida dilakukan selama 24 jam setelah larva diujikan dengan larutan uji ekstrak dan fraksi daun sembukan. Uji aktivitas larvasida dilakukan pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dimana jumlah larva yang digunakan tiap gelas uji sebanyak 25 ekor dan masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

Uji ini menggunakan obat pembasmi jentik nyamuk Abate 1G® sebagai kontrol positif dengan zat aktif Temephos sedangkan kontrol negatifnya menggunakan Aquadest ditambahkan Twen 80.

Hasil uji aktivitas larvasida dari ekstrak dan fraksi daun sembukan serta kontrol positif dan negatifnya dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji aktivitas larvasida

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati per 25 ekor											
	Ekstrak			Fraksi n-heksana			Fraksi etil asetat			Fraksi air		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
400	5	6	5	4	5	5	6	7	7	3	4	4
800	12	14	13	10	12	12	13	14	14	8	9	10
1200	19	20	22	18	19	20	21	22	23	15	16	18
Kontrol (+)							25					
Kontrol (-)							0					

Keterangan :

Kontrol positif : obat pembasmi jentik nyamuk ABATE 1G® (100)ppm

Kontrol negatif : aquadest + tween 80

Hasil pada tabel 11 di atas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji (ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air) maka jumlah kematian larva semakin besar. Jadi semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin besar % kematian dari larva nyamuk *Aedes aegypti*.

ABATE 1G® yang digunakan sebagai pembanding ekstrak dan fraksi dari daun sembukan berefek membunuh 100% hewan uji dalam hal ini larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, sedangkan untuk kontrol negatif adalah aquadest yang

dicampur dengan Tween 80 yang digunakan sebagai pelarut, dimana kontrol negatif ini tidak berpengaruh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Tabel 12 menunjukkan harga dan rata-rata LC₅₀ masing-masing ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air.

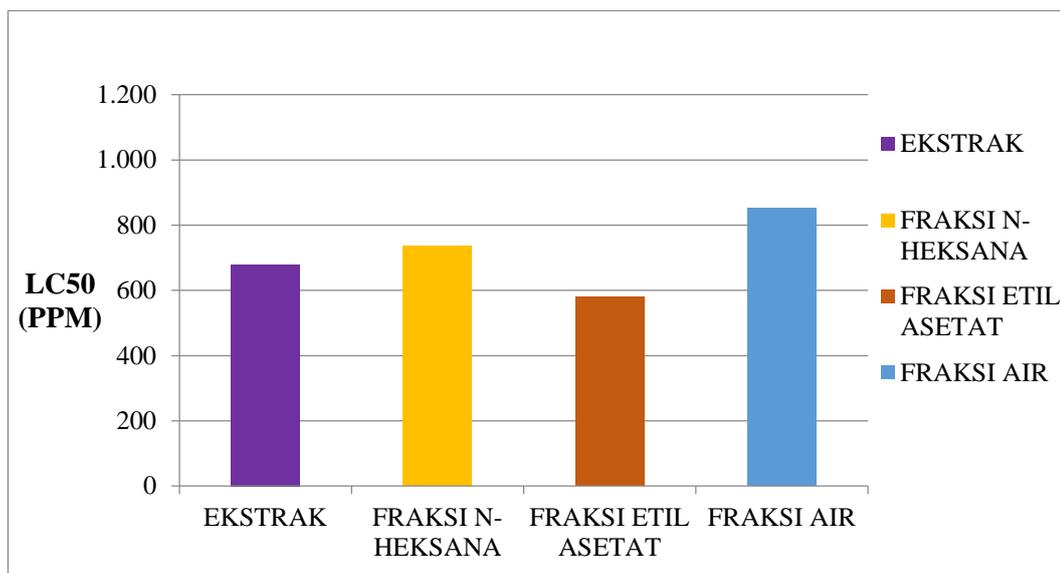
12. Penetapan LC₅₀

Besarnya daya larvasida ekstrak dan fraksi daun sembukin dapat diketahui dengan menggunakan persamaan garis lurus $y = a + bx$ antara log konsentrasi (x) dan probit (y). Harga LC₅₀ dicari dari persamaan garis tersebut dengan memasukkan nilai $y = 5$ sebagai nilai probit untuk 50% kematian, maka antilog x sebagai harga LC₅₀. Perhitungan harga LC₅₀ dari uji larvasida ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari daun sembukin.

Tabel 12. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol, fraksi n heksana, fraksi etil asetat, fraksi air

Kelompok	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak etanol	714,5976 ± 40,5005
Fraksi n heksana	781,7044 ± 61,4904
Fraksi etil asetat	627,3943 ± 40,6951
Fraksi air	952,6516 ± 98,5057

Tabel 12 menunjukan nilai LC₅₀ masing-masing kelompok perlakuan yaitu ekstrak etanol 714,5976 ppm, fraksi n heksana 781,7044 ppm, fraksi etil asetat 627,3943 ppm, fraksi air 952,6516 ppm.



Gambar 5. Nilai rata-rata LC₅₀ ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sembung terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Penelitian ini menggunakan ekstrak dan fraksi daun sembung yang memiliki aktivitas sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah Abate 1G®, karena Abate 1G® telah banyak dikenal dan digunakan masyarakat sebagai obat penghambat pertumbuhan jentik nyamuk. Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest dan tween 80. Pada perlakuan kontrol positif, didapatkan kematian pada semua larva nyamuk *Aedes aegypti* karena ABATE 1G® yang mempunyai aktivitas mortalitas yang mampu membunuh larva. Kontrol positif berfungsi untuk mengetahui validitas metode penelitian, dan kontrol negatif yang menggunakan aquadest+tween 80 berfungsi sebagai bahan pembanding apakah pada mempengaruhi pada kematian larva atau tidak, dan didapatkan hasil dari penelitian yang dilakukan bahwa aquadest+tween 80 tidak mempunyai aktivitas mortalitas dan tidak mempengaruhi kematian pada subjek uji. Pada pembuatan larutan stok digunakan tween 80 sebagai tambahan dan

berfungsi sebagai suspending agent untuk mensuspensikan ekstrak dan fraksi dengan air, sehingga dapat tercampur homogen.

Analisa jumlah kematian dengan metode anova satu arah diperoleh hasil uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* dengan nilai signifikansi sebesar 0,680. Nilai signifikansi ($0,680 > 0,05$) dinyatakan terdistribusi normal, dilanjutkan uji *One Way ANOVA*. Uji ANOVA menunjukkan hasil dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. Melalui Tukey HSD didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan nyata pada nilai jumlah kematian antara kelompok perlakuan dengan kontrol positif. Fraksi etil asetat dapat memberikan jumlah kematian paling besar dibandingkan ekstrak, fraksi n-heksana, dan fraksi air. Sedangkan nilai jumlah kematian antara kelompok perlakuan dengan kontrol negatif terdapat perbedaan nyata. Fraksi etil asetat dapat memberikan jumlah kematian paling besar dibandingkan ekstrak, fraksi n-heksana, dan fraksi air.

Analisis nilai LC_{50} dengan menggunakan metode anova diperoleh hasil uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh dengan nilai signifikansi sebesar 0,744. Nilai signifikansi $0,744 > 0,05$ dinyatakan terdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dengan nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Tuckey HSD*.

Hasil rata-rata LC_{50} menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas larvasida paling baik yaitu 627,3943 ppm yang dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi air daun sembung dengan nilai LC_{50} berturut-turut yaitu 714,5976 ppm, 781,7044 ppm, dan 952,6516 ppm. Serta dapat

menyebabkan 50% kematian pada larva nyamuk *Aedes aegypti* setelah kontak dengan larva selama 24 jam.

Melalui uji Tuckey didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan nyata pada nilai LC_{50} dalam setiap kelompok perlakuan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas larvasida paling baik dilihat dari nilai LC_{50} yaitu 627,3943 ppm yang dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi air daun sembuk dengan nilai LC_{50} berturut-turut yaitu 714,5976 ppm, 781,7044 ppm, dan 952,6516 ppm.

Suatu ekstrak dikatakan toksik apabila memiliki LC_{50} kurang dari 1000 ppm setelah waktu kontak 24 jam (Indrayani *et al.* 2006). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa semakin rendah nilai LC_{50} suatu zat, maka zat tersebut memiliki aktivitas yang lebih tinggi dalam membunuh subyek uji karena zat tersebut memerlukan konsentrasi yang lebih rendah untuk mematikan subyek uji.). Senyawa bioaktif sebagai zat toksik yang terkandung dalam filtrat dapat masuk melalui dinding tubuh larva karena merupakan bagian tubuh yang dapat menyerat zat toksik dalam jumlah besar dan melalui mulut karena larva biasanya mengambil makanan dari tempat hidupnya. Hal tersebut disebabkan ekstrak memiliki komponen senyawa kimia yang lebih banyak (Yunita *et al.* 2009).

Dari hasil uji yang didapat bahwa fraksi etil asetat memiliki LC_{50} yang paling rendah yaitu sebesar 627,3943 ppm, artinya bahwa fraksi etil asetat memiliki daya bunuh yang paling tinggi dan lebih efektif dibandingkan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi air daun sembuk. Hal ini bisa disebabkan karena

tiap fraksi masing-masing memiliki komponen senyawa kimia yang berbeda-beda. Nilai LC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa semipolar (etil asetat) lebih tinggi toksisitasnya dibandingkan senyawa nonpolar (n-heksana) dan senyawa polar (air).

Mortalitas larva diduga disebabkan karena adanya kandungan senyawa kimia pada daun sembung yang berupa flavonoid, alkaloid, saponin. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa kimia pertahanan tumbuhan yang termasuk ke dalam metabolit sekunder yang dihasilkan pada jaringan tumbuhan dan dapat bersifat toksik serta dapat juga berfungsi sebagai racun perut dan pernafasan (Yeni 2008).

Mekanisme dari flavonoid sebagai larvasida adalah penghambat makan serangga serta bersifat toksik yang akhirnya mengganggu pertumbuhan serangga. Mekanisme saponin sebagai larvasida adalah saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus sehingga dinding traktus digestivus menjadi korosif. Fungsi saponin yang lainnya adalah dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan serangga karena memiliki rasa pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva sehingga larva akan mati kelaparan (Soparat 2010).

Dalam penelitian Wahyulianto (2005), flavonoid dapat masuk melalui kutikula yang melapisi tubuh larva sehingga merusak membran sel larva. Sedangkan alkaloid bertindak sebagai racun perut yang menyebabkan gangguan sistem pencernaan yang masuk melalui mulut larva (Soparat 2010). Larva yang terkena racun akan mati karena kekurangan cairan. Racun kontak adalah larvasida yang masuk ke dalam tubuh larva melalui kulit, celah/lubang alami pada tubuh

(shifon). Larva akan mati apabila bersinggungan langsung dengan larvasida tersebut (Wahyuni 2005).

Menurut Gosh A *et al* (2012) zat toksik yang berperan sebagai toksikan merupakan metabolit sekunder pada tanaman. Senyawa metabolit tersebut memiliki efek pada berbagai target molekul antara lain: reseptor, enzim, sinyal molekul, saluran ion dan struktural protein. Hal ini mempengaruhi fisiologi pada larva nyamuk dalam berbagai cara dan berbagai tempat reseptor, terutama kelainan pada sistem syaraf.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian aktivitas larvasida dari ekstrak , fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dari daun sembukan terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

Pertama, ekstrak dan fraksi daun sembukan (*Paederia foetida* L) mempunyai aktivitas sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, di antara ekstrak dan fraksi daun sembukan (*Paederia foetida* L) yang memiliki aktivitas paling baik sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dilihat dari nilai LC_{50} adalah fraksi etil asetat dengan nilai LC_{50} 588,8854 ppm dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi lainnya yaitu 679,5164 ppm ekstrak etanol, 734,8522 ppm fraksi *n*-heksana, 851,3440 ppm fraksi air.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melengkapi penelitian yaitu:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang memiliki aktivitas larvasida yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun sembukan.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas larvasida ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun sembung dengan menggunakan pelarut dan metode yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Adityo Raden, Betta Kurniawan, Syazili Mustofa. 2012. Uji Efek Fraksi Metanol Ekstrak Batang Kecombrang (*Etlingera elatior*) Sebagai Larvasida Terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Lampung.
- Auterhoff H. 2002. *Identifikasi Obat*. Bandung: ITB
- Bintari NE. 2012. Uji aktivitas larvasida fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* [skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi Surakarta.
- Cania Eka, Septyaningrum Endah. 2013. Uji efektifitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Staff Pengajar Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- BPOM 2000. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, BPOM. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- Darwin. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati Manusia untuk Pemanfaatan Sumber Daya Alam Hayati dan Rekayasa Bioteknologi*. Padang: FMIPA, UNP.
- Departemen Kesehatan RI 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI 1985. *Tanaman Medika Obat*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI 1991. *Inventaris Tanaman Obat Herbal Indonesia*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI 2000. *Parameter Standar Ekstrak*. Jakarta.
- Didik Gunawan, Sri Mulyani. 2004. Obat hayati golongan minyak atsiri. Dalam: *Ilmu obat alam (farmakognosi)*. Cetakan I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal. 119-120.

- Djallalluddin, Hasni HB, Riana W, Lisda H. 2004. Gambaran penderita pada kejadian luar biasa demam berdarah dengue di kabupaten Banjar dan Kota Banjarbaru tahun 2001. *DEXA Media.*, No.2, Vol. 17, hal 85-91:Banjar.
- Durham WF. 1975. Toxicity in NI. Sax (ed): Dangerous Properties of Industrial Materials. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- Fitri L, Yasmin Y. The effect of *Metharrizium anisopliae* fungi on mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Jurnal natural* 10:1.
- Ghandahusa S Pribadi W, Illahue HD. 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gosh A, Chowdhury N, Chandra G. 2012. Plant extract as potential mosquito larvacides. *Indian J Med Res* 135(581-598). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> [14 Nov 2016]
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hadi UK, Koesharto FX. 2006. Nyamuk. Di dalam: Sigit SH, Hadi UK. (Ed.), *Hama Permukiman Indonesia. Pengenalan, Biologi, dan Pengendalian*. pp. 23-51. Bogor: Unit Kajian Pengendalian Hama Permukiman. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Haditomo Indriantoro. 2010. Efek larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap *Aedes aegypti*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italian Ministry of Foreign Affairs.
- Harbone 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*.
- Harmita, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisa Hayati*. Edisi II. Jakarta: Ari Cipta.
- Hartono. 2009. Saponin. <http://www.farmasi.asia/tag/saponin/>
- HowStuffWorks. 2009. Alkaloid. <http://science.howstuffworks.com/alkaloid/info.htm>. (11 Nopember 2015).
- Kalsum, U., Endarti, A. T., & Milliana, A., 2006, Uji Efek Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper lingum* BI.) terhadap Larva *Culex sp*. *Jurnal Penelitian Hayati*, 1 (1), 1-4.

- Kementrian kesehatan Republik Indonesia. 2010. Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. Volume ke-2. Buletin jendela epidemiologi. Jakarta. hlm 1-3.
- Loomis TA. 1978. *Toksikologi Dasar*. Diterjemahkan oleh : Donatus IA. Edisi III. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Mardihusodo SJ. 1992. Daya insektisida daun dan biji *Annona Muricata* terhadap larva nyamuk di Laboratorium berkala ilmu kedokteran. Jilid XXIV. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Mursyidi A. 1990. *Analisis Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Moerid MS & Losung, M. F 2013. Uji aktivitas larvasida nyamuk *Aedes aegypti* dari beberapa ekstrak ascidian. hlm 15-16.
- Nadjeeb. 2009. Alkaloid. <http://nadjeeb.files.wordpress.com/2009/03/alkaloid.pdf>. Di akses 29 november 2015
- Ndione RD, Faye O, Ndiaye M, Dieye A., and Afoutou JM, 2007, *Toxic effects of neem products (Azadirachta indica A. Juss) on Aedes aegypti Linnaeus 1762 larvae*, In *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (24), pp. 2846-2854. Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*.
- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Parwanto D, Wibowo MA. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksisitas Fraksi Daun Sembukan (*Paederia foetida* L) . Volume (4).
- Praeparandi. 1978. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl.
- Pradipta, I. S, Nikodemus, T. W. dan Susilawati, Y. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Xanton dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **4**(2).
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padmawinata K, Penerjemah. Bandung : Penerbit ITB. Terjemahan dari : *The Organic Constituents of Higher Plant*.
- Rumengan AP 2010. Uji aktivitas larvasida nyamuk *Aedes aegypti* dari Ascidian (*Didemnum molle*). hlm 1: 83-84.

- Saifudin A, Rahayu, & Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Sembel, Dantje T. 2009. *Entomologi Kedokteran*. Yogyakarta: CV Andi.
- Shakhashiri. 2009. Chemical of the Week, Ethanol. University of Wisconsin-Madison.
- Sidik dan H. Mudahar. 2000. Ekstraksi tumbuhan obat, metode dan faktor-faktor yang mempengaruhi mutunya. Universitas 17 Agustus 1945
- Soedarto. 2002. *Sinopsis Klinis*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Solikin. 2007. Potensi Jenis-jenis Herba Liar di Kebun Raya Purwodadi sebagai Obat, <http://fisika.brawijaya.ac.id/bssub/proceeding/PDF%20FILES/BSS118.pdf> (29 Oktober 2015)
- Soparat S. 2010. Chemical Ecology and Function of Alkaloids. <http://pirun.ku.ac.th/~g4686045/media/alkaloid.pdf> (11 Nopember 2015).
- Stahl E. 1985. *Analisa Obat Secara Mikroskopis dan Kromatografi*. Bandung: ITB.
- Suriadi, Rita Yuliani. 2001. *Asuhan Keperawatan DBD*. Jakarta.
- Susilowati N. 2010. Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Metanolik Daun Seligi (*phyllanthus buxifolius*. Muel, arg) Terhadap Radikal Bebas DPPH [skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sahela S. 2009. *Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Tiwari P., Bimlesh K., Mandeep K., Gurpreet K., Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan Ekstraksi*. Internasionale Pharmaceutica Scientia Jan-Maret 2011: Vol 1 Issue 1. Departemen Farmasi Ilmu Sekolah, Indah Ilmu Farmasi. Phagwara, Punjab.
- Utami P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia.
- Verma R.J, Dave M, dan Mathuria N. 2008. A Study on Toxicity of Gasoline an GM-10 on Liver of Mice and it's Amelioration By Black Tea Extract. Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research. Vol. 65(5): 601605.
- Vikas Kumar, Yadav Pankajkumar S, Udaya Pratap Singh, Hans raj Bhat, Md. Kamaruz Zaman. Pharmacognostical and Phytochemical study on the leaves of *Paederia Foetida* linn. Departement of pharmaceutical sciences, Diburgarh University. India

- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi IV. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wagner H. And S Bland. 1996. *Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2nd Edition. Berlin Heidelberg: Springer.
- Wahyuni S. 2005. Daya bunuh ekstrak serai (*Andropogon nardus*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* [Skripsi]. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Wakhyulianto. 2005. Uji Daya Bunuh Ekstrak Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. Semarang Universitas Negeri Semarang. Skripsi.
- Wibowo AE, Sumaryono, Milnaldi. 1997. Uji Aktivitas Larvasida dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Rimpang Temu Lawak Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Dalam Bidang Farmasi.
- World Health Organization. 2010. The Impact of Dengue. <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/index.html> (11 Nopember 2015)
- Wulandari TK.2001. Vektor Demam Berdarah dan Penanggulangannya. *Mutiara Medica*, 1 (1), 27-30
- Yeni. 2008. Efektifitas ekstrak daun babakan (*Ageratum conyzoides* Linn) terhadap larva *Anopheles sundaicus* Linn di desa Babakan Pangandaran Jawa Barat. Laporan kerja praktik. Fakultas MIPA. Lampung : Universitas Lampung.
- Yunita, EA, Suorapti, NH & Hidayat, JW. 2009. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. Bioma vol. 11. Hal 11-17.

**L
A
M
P
I
R
A
Z**

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Sembukan



No : 098/DET/UPT-LAB/20/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Dewi Anggriani
NIM : 18123493 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : Sembukan (*Paederia foetida* Auct. non. L.)

Determinasi berdasarkan Backer : Flora of Java.

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21a – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28a – 29b – 30b – 31b – 403b – 404b – 405a – 406a – 409a – 410b – 414a – 415a – 416a – 417a – 418a – 419a. familia 162. Rubiaceae. 1a – 2b – 4c – 10b – 13b – 14b – 15b – 16b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 38a – 39a – 45b – 48b – 49a – 59. Paederia. 1b. *Paederia foetida* Auct. non. L. ; Sinonim: *P. tomentosa* Bl., *P. scandens* (Lour.) Merr.

Deskripsi :

Habitus : Semak.
Batang : memanjat.
Daun : Duduk daun berhadapan, oval sampai lanceolatus, pangkal cordatus, ujung runcing, tepi rata, tulangdaun menyirip, herbaceus, panjang 3,5 – 10,5 cm, lebar 3 – 5 cm, berbau spesifik (seperti kentut).
Bunga : Majemuk, keluar dari ketiak daun atau percabangan, mahkota putih, berlekatan, membentuk tabung, permukaan dalam tabung ungu,
Buah : Bulat, kecil, oranye sampai kuning cerah, 4 – 6 mm.
Akar : Tunggang.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 21 November 2016

Tina determinasi

Dr. Karunan Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat Keterangan Penelitian di Balai Besar Penyakit dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP)



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT

Jalan Hasanudin No. 123 PO. BOX 200, Salatiga 50721
 Telepon : (0298) 327096 ; 312107, Faksimile : (0298) 322604 ; 312107
 Surat Elektronik : b2p2vrp@litbang.depkes.go.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : LB.02.03/IV.4/102192016

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yusnita Mirna Anggraeni, S.Si., M.Biotech
 NIP : 198401302008122003
 Pangkat/ Golongan : Penata Muda Tk I / III b
 Jabatan : Kepala Sub Bidang Sarana Penelitian dan Pengujian

Menerangkan bahwa Mahasiswa S1 Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

No	Nama	NIM	Judul Skripsi
1	Dewi Anggriani	18123493 A	Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak dan Fraksi Daun Sembukan (<i>Paederia foetida</i> L) terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>

Telah melakukan penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Uji Kaji Insektisida B2P2VRP Salatiga pada tanggal 12-13 Oktober 2016 untuk menunjang penyusunan skripsi. Sebagai kelengkapan administrasi, mahasiswa yang bersangkutan diharuskan mengumpulkan skripsi ke bagian Pelayanan dan Penelitian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

29 November 2016

a.n. Kepala

Kepala Bidang Pelayanan Penelitian

ub.

Kepala Sub. Bidang Sarana Penelitian
dan Pengujian



Yusnita Mirna Anggraeni, S.Si., M.Biotech
 NIP 198401302008122003

Lampiran 3. Surat Keterangan Kelayakan Etik (*Ethical Clearance*)



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital

RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine SebelasMaret University

Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE

KELAIKAN ETIK

Nomor : 118/ II / HREC /2016

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas

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 EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SEMBUKAN (PAEDERIA FOETIDA L.)
SEBAGAI LARVASIDA PADA LARVA NYAMUK AEDES AEGYPTI

Principal investigator : Dewi Anggriani
Peneliti Utama 18123493A

Location of research : B2P2VRP Salatiga
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
Dinyatakan laik etik

Issued on : 22 Februari 2016



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

Lampiran 4. Tanaman Daun Sembukan, Serbuk Daun Sembukan, Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Sembukan



Daun sembukan



Serbuk sembukan



Fraksi daun sembukan



Ekstrak etanol daun sembukan

Lampiran 5. Foto Timbangan Analitik, Evaporator, dan *Moizture Balance*

Timbangan analitik



Evaporator



Moisture balance



Corong pisah



Botol maserasi



Oven

Lampiran 6. Foto Kontrol Positif dan Negatif, Gelas Uji Larvasida, Larva *Aedes aegypti* , Larutan Stok



Kontrol positif dan negatif



Uji larvasida ekstrak dan fraksi



Larva *Aedes aegypti*



Larutan induk

Lampiran 7. Foto Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk dan Ekstrak Etanolik Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)

✚ Serbuk



Alkaloid



Flavonoid



Saponin

✚ Ekstrak etanolik



alkaloid

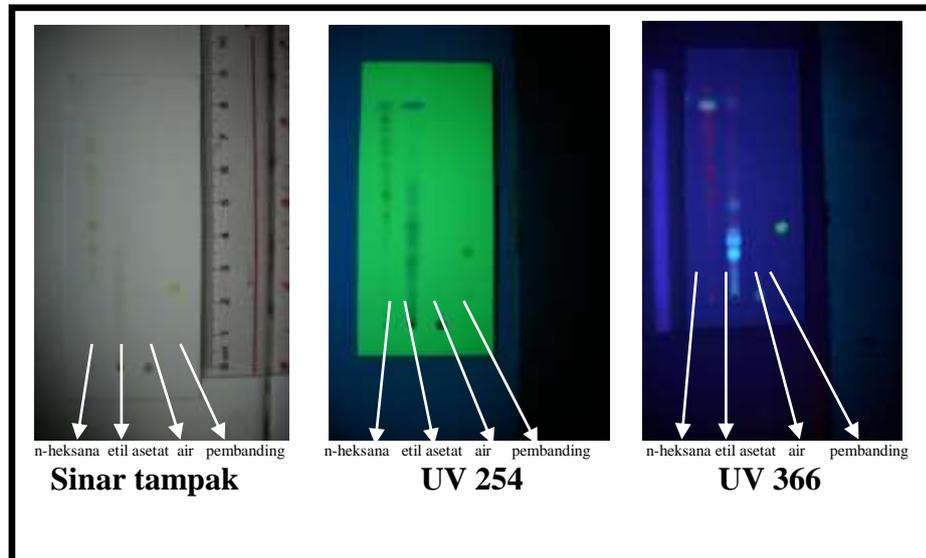


Flavonoid



saponin

Lampiran 8. Foto Identifikasi KLT Ekstrak Etanolik, Fraksi N-heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)



Keterangan : urutan totalan dari kanan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan pembeding quersetin

Fase diam : Silica gel 60 F254

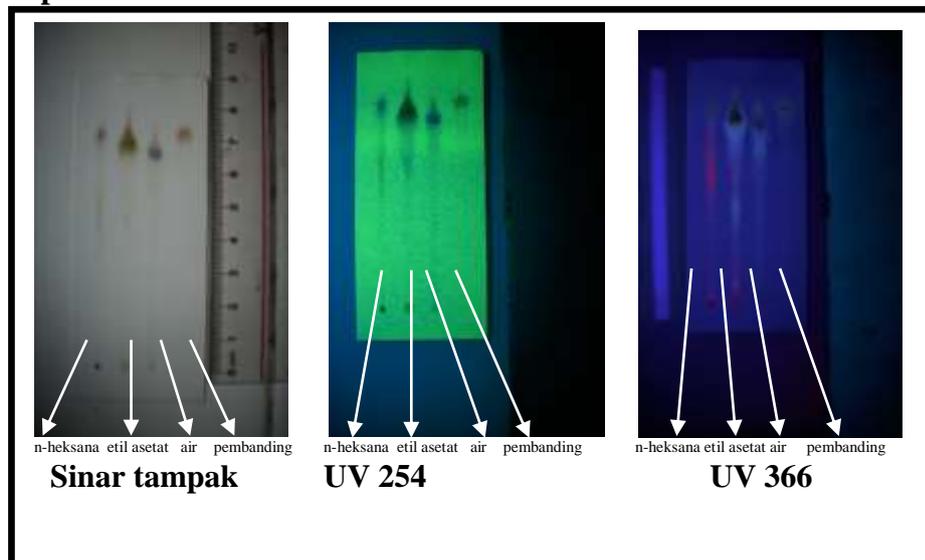
Fase gerak : heksana:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2)

Pembeding : Quersetin 10mg / 1ml etanol

Deteksi : Sitroborat

(dilihat setelah semprot di uv 366 berwarna kuning)

Saponin

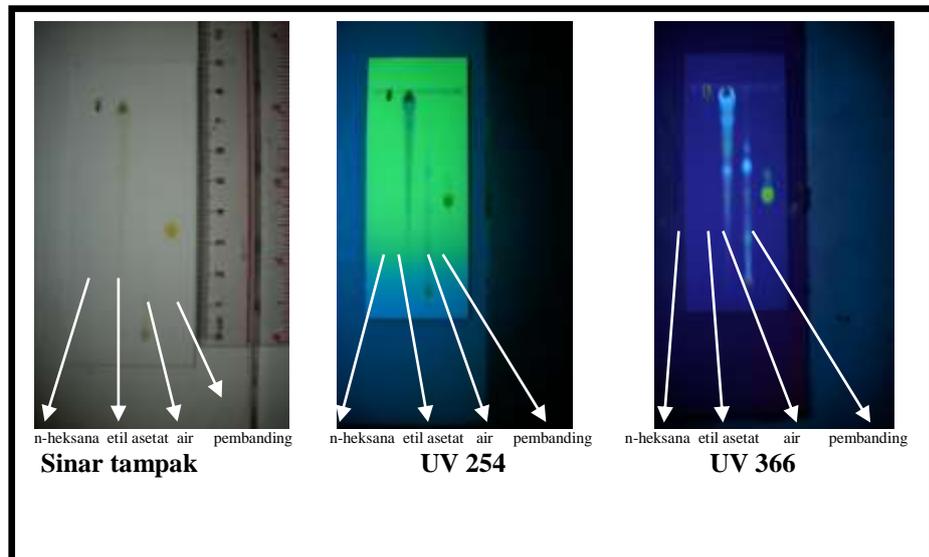


Keterangan : urutan totolan dari kanan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan pembanding saponin

Fase diam : Silica gel 60 F254
 Fase gerak : Kloroform: metanol :air (64:50:1)
 Pembanding : Saponin 10mg / 1ml etanol
 Deteksi : Liberman Bourchat

(dilihat setelah semprot di sinar tampak berwarna hijau kecoklatan)

Alkaloid



Keterangan : urutan totolan dari kanan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan pembanding quinin

Fase diam : Silica gel 60 F254
 Fase gerak : diklormetan:dietilamin (9:1)
 Pembanding : Quinin 10mg / 1ml etanol
 Deteksi : Dragendorf

(dilihat setelah semprot di sinar tampak berwarna orange)

Lampiran 8. Perhitungan Rf Flavonoid Dengan Pembanding Quersetin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan

$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari titik awal}}{\text{jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

✚ Pembanding

UV 254 nm dan UV 366 nm

$$Rf = \frac{2,5}{9} = 0,2777$$

✚ Fraksi n-heksana

$$\text{UV 254 nm } Rf = \frac{7,0}{9} = 0,7777$$

$$\text{UV 366 nm } Rf = \frac{7,0}{9} = 0,7777$$

✚ Fraksi etil asetat

$$\text{UV 254 nm } Rf = \frac{6,3}{9} = 0,7000$$

$$\text{UV 366 nm } Rf = \frac{6,3}{9} = 0,7000$$

✚ Fraksi air

$$\text{UV 254 nm } Rf = \frac{2,4}{9} = 0,2666$$

$$\text{UV 366 nm } Rf = \frac{2,4}{9} = 0,2666$$

Lampiran 9. Perhitungan Rf Saponin Dengan Pembanding Saponin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan

✚ Pembanding

UV 254 nm dan UV 366 nm

$$R_f = \frac{7,3}{8} = 0,9125$$

✚ Fraksi n-heksana

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{7,6}{8} = 0,9500$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{7,6}{8} = 0,9500$$

✚ Fraksi etil asetat

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{7,1}{8} = 1,0125$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{7,1}{8} = 1,0125$$

✚ Fraksi air

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{7,7}{8} = 0,9625$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{7,7}{8} = 0,9625$$

Lampiran 10. Perhitungan Rf Alkaloid Dengan Pembanding Quinin Dari Ekstrak Etanol Daun Sembukan

✚ Pembanding

UV 254 nm dan UV 366 nm

$$R_f = \frac{3,5}{8} = 0,4375$$

✚ Fraksi n-heksana

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{7,6}{8} = 0,9500$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{7,6}{8} = 0,9500$$

✚ Fraksi etil asetat

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{7,7}{8} = 0,9625$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{7,7}{8} = 0,9625$$

✚ Alkaloid

$$\text{UV 254 nm } R_f = \frac{5,9}{8} = 0,7375$$

$$\text{UV 366 nm } R_f = \frac{5,9}{8} = 0,7375$$

Lampiran 11. Perhitungan Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000	612	12,24

Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun sembukan :

$$\text{Rumus : Rendemen} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{612}{5000} \times 100\% = 12,24\%$$

Jadi, persentase rata-rata bobot kering terhadap bobot basah daun sembukan adalah 12,24%.

Lampiran 12. Hasil Penetapan Kandungan Lembab Serbuk Daun Sembukan

No	Bobot awal (g)	Bobot setelah pengeringan (g)	Susut pengeringan (%)
1	2	1,83	8,5
2	2	1,85	7,5
3	2	1,83	8,5
Rata-rata			8,17

$$\text{Rata-rata} = \frac{8,5\%+7,5\%+8,5\%}{3}$$

$$= 8,17\%$$

$$\text{SD} = 0,5787$$

Lampiran 13. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)

Bobot sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
600	51,99	8,66

Persentase rendemen ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L.):

$$\text{Rumus : Rendemen} = \frac{\text{ekstrak kental}}{\text{serbuk}} \times 100\%$$

$$1. \text{ Rendemen} = \frac{51,99}{600} \times 100\% = 8,66\%$$

Jadi, persentase rata-rata rendemen ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L.) adalah 8,66%

Lampiran 14. Perhitungan Rendemen Fraksi N heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.)

Fraksi	berat ekstrak (g)	berat fraksi (g)	Rendemen (%)
n-heksana	50	14,84	29,86
Etil asetat	50	16,84	33,68
Air	50	22,68	45,36

Perhitungan rendemen fraksi n-heksana dari ekstrak daun sembukan (*Paederia foetida* L):

$$\text{Rumus : Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{14,84}{50} \times 100\% = 29,68 \%$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak daun sembukan (*Paederia foetida* L):

$$\text{Rendemen} = \frac{16,84}{50} \times 100\% = 33,68 \%$$

Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak daun sembukan (*Paederia foetida* L):

$$\text{Rendemen} = \frac{22,68}{50} \times 100\% = 45,36 \%$$

Lampiran 15. Perhitungan penyiapan stok kontrol positif dan kontrol negatif.

- Kontrol positif

Penimbangan ABATE 1G®

10 gram dalam 100 liter

10.000 mg dalam 100.000 ml

$$\frac{10.000 \text{ mg}}{100.000 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$\begin{aligned} 1.000.000 \text{ mg.ml} &= 100.000 \text{ ml.X} \\ X &= \frac{1.000.000 \text{ mg.ml}}{100.000 \text{ ml}} \end{aligned}$$

$$X = 10 \text{ mg}/100 \text{ mL}$$

- Kontrol negatif

Jumlah tween 80 yang digunakan untuk kontrol negatif sama dengan jumlah tween 80 yang digunakan untuk membuat larutan stok yaitu sebanyak 1 ml. Pipet 1 ml tween 80 masukkan ke dalam labu takar 50 ml kemudian tambahkan aqua destilata sampai tanda batas

Lampiran 16. Perhitungan pembuatan dan pengambilan volume larutan induk ekstrak etanol, fraksi *n*-Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air

Konsentrasi larutan induk = 1000 ppm
 = 1000 mg / 1 L
 = 1 g / 1000 ml
 = 0,1 g / 100 ml
 = 100 mg / 100 ml

Timbang ekstrak/fraksi 100 mg, masukkan labu takar 100 ml, di tambahkan Tween 80 1 ml + aquadest sampai tanda batas

Perhitungan pembuatan dan pengambilan volume larutan induk :

- Konsentrasi 400 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{50 \times 400}{1000}$$

$$= 20$$

20 ml larutan induk ditambah aquadest sampai dengan 50 ml

- Konsentrasi 800 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{50 \times 800}{1000}$$

$$= 40$$

40 ml larutan induk ditambah aquadest sampai dengan 50 ml

- Konsentrasi 1200 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{50 \times 1200}{1000}$$

$$= 60$$

60 ml larutan induk ditambah aquadest sampai dengan 50 ml

**Lampiran 17. Pengaruh Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sembukan
Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti***

A. Replikasi 1

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	5
800	12
1200	19

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	5	20	4,16
800	2,9030	12	48	4,95
1200	3,0791	19	76	5,71

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,1637$$

$$b = 3,1816$$

$$r = 0,9904$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 5 &= -4,1637+3,1816x \\
 9,1637 &= 3,1816x \\
 x &= 2,8802 \\
 \text{antilog } x &= 2,8802 \\
 LC_{50} &= 758,9270
 \end{aligned}$$

B. Replikasi 2

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	6
800	14
1200	20

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	6	24	4,29
800	2,9030	14	56	5,15
1200	3,0791	20	80	5,84

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,0820$$

$$b = 3,2066$$

$$r = 0,9962$$

$$y = a + bx$$

$$5 = -4,0820 + 3,2066x$$

$$9,0820 = 3,2066x$$

$$x = 2,8322$$

$$\text{antilog } x = 2,8322$$

$$LC_{50} = 679,5164$$

C. Replikasi 3

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	5
800	13
1200	22

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	5	20	4,16
800	2,9030	13	52	5,05
1200	3,0791	22	88	6,18

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -6,5914$$

$$b = 4,0964$$

$$r = 0,9762$$

$$\begin{aligned} y &= a+bx \\ 5 &= -6,5914+4,0964x \\ 11,5914 &= 4,0964x \\ x &= 2,8484 \\ \text{antilog } x &= 2,8484 \\ LC_{50} &= 705,3494 \end{aligned}$$

$LC_{50} (x)$	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
758,9270	714,5976	44,3294	1965,0957
679,5164		-35,0812	1230,6903
705,3494		-9,2428	85,5290
Σ			3281,3152

Analisis statistik yang digunakan dengan rumus :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{3280,5936}{3-1}} = 40,5005 \end{aligned}$$

$$2. SD = 2 \times 40,5005 = 81,0011$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{758,9270+679,5164}{2} = 692,4329$$

$$\text{Syarat} = |x - \bar{x}| \leq 2.SD$$

$$\text{Kriteria penolakan: } |x - \bar{x}| < 2.SD \rightarrow \text{data diterima}$$

$$|x - \bar{x}| > 2.SD \rightarrow \text{data ditolak}$$

$$|758,9270 - 692,4329| = 66,4941 \leq 81,0011 \rightarrow \text{data}$$

diterima

Jadi, LC_{50} ekstrak etanol adalah 714,5976 ppm.

**Lampiran 18. Pengaruh Perlakuan Fraksi N-heksana Daun Sembukan
Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti***

A. Replikasi 1

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	4
800	10
1200	18

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	4	16	4,01
800	2,9030	10	40	4,75
1200	3,0791	18	72	5,58

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,3796$$

$$b = 3,2011$$

$$r = 0,9833$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 5 &= -4,3796+3,2011x \\
 9,3796 &= 3,2011x \\
 x &= 2,9301 \\
 \text{antilog } x &= 2,9301 \\
 LC_{50} &= 851,3340
 \end{aligned}$$

B. Replikasi 2

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	5
800	12
1200	19

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	5	20	4,216
800	2,9030	12	48	4,95
1200	3,0791	19	76	5,71

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,1637$$

$$b = 3,1816$$

$$r = 0,9904$$

$$y = a + bx$$

$$5 = -4,1637 + 3,1816x$$

$$9,1637 = 3,1816x$$

$$x = 2,8802$$

$$\text{antilog } x = 2,8802$$

$$LC_{50} = 758,9270$$

C. Replikasi 3

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	5
800	12
1200	20

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	5	20	4,16
800	2,9030	12	48	4,95
1200	3,0791	20	80	5,84

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,8161$$

$$b = 3,4247$$

$$r = 0,9830$$

$$\begin{aligned} y &= a+bx \\ 5 &= -4,8161+3,4247x \\ 9,8161 &= 3,4247x \\ x &= 2,8662 \\ \text{antilog } x &= 2,8662 \\ LC_{50} &= 734,8522 \end{aligned}$$

$LC_{50} (x)$	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
851,3340	781,7044	69,6296	4848,2112
758,9270		-27,7774	518,8099
734,8522		-46,8522	2195,1286
Σ			7562,1497

Analisis statistik yang digunakan dengan rumus :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{7562,1497}{3-1}} = 61,4904 \end{aligned}$$

$$2. SD = 2 \times 61,4904 = 122,9808$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{734,8522+758,9270}{2} = 746,8896$$

$$\text{Syarat} = |x - \bar{x}| \leq 2.SD$$

Kriteria penolakan: $|x - \bar{x}| < 2.SD \rightarrow$ data diterima

$|x - \bar{x}| > 2.SD \rightarrow$ data ditolak

$$|805,1305 - 746,8896| = 58,2409 \leq 122,9808 \rightarrow \text{data}$$

diterima

Jadi, LC_{50} fraksi n-heksana adalah 781,7044 ppm.

**Lampiran 19. Pengaruh Perlakuan Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan
Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti***

A. Replikasi 1

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	6
800	13
1200	21

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	6	24	4,29
800	2,9030	13	52	5,05
1200	3,0791	21	84	5,99

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,7657$$

$$b = 3,4514$$

$$r = 0,9778$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 5 &= -4,7657+3,4514x \\
 9,7657 &= 3,4514x \\
 x &= 2,8294 \\
 \text{antilog } x &= 2,8294 \\
 LC_{50} &= 675,2887
 \end{aligned}$$

B. Replikasi 2

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	7
800	14
1200	22

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	7	28	4,42
800	2,9030	14	56	5,15
1200	3,0791	22	88	6,18

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,9162$$

$$b = 3,5529$$

$$r = 0,9694$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 5 &= -4,9162+3,5529x \\
 9,9162 &= 3,5529x \\
 x &= 2,7910 \\
 \text{antilog } x &= 2,7910 \\
 LC_{50} &= 618,0388
 \end{aligned}$$

C. Replikasi 3

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	7
800	14
1200	23

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	7	28	4,42
800	2,9030	14	56	5,15
1200	3,0791	23	92	6,64

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -7,2247$$

$$b = 4,4132$$

$$r = 0,9410$$

$$\begin{aligned} y &= a+bx \\ 5 &= -7,2247+4,4132x \\ 12,2247 &= 4,4132x \\ x &= 2,7700 \\ \text{antilog } x &= 2,7700 \\ LC_{50} &= 588,8854 \end{aligned}$$

$LC_{50}(x)$	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
675,2887	627,3943	47,8944	2293,9753
618,0388		-9,3555	87,5253
588,8854		-38,5089	930,7929
Σ			3312,1917

Analisis statistik yang digunakan dengan rumus :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{3312,1917}{3-1}} = 40,6951 \end{aligned}$$

$$2. SD = 2 \times 40,6951 = 81,3903$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{618,0388 + 588,8854}{2} = 603,4621$$

$$\text{Syarat} = |x - \bar{x}| \leq 2.SD$$

Kriteria penolakan: $|x - \bar{x}| < 2.SD \rightarrow$ data diterima

$|x - \bar{x}| > 2.SD \rightarrow$ data ditolak

$$|675,2881 - 603,4621| = 71,8266 \leq 81,3903 \rightarrow \text{data}$$

diterima

Jadi, LC_{50} fraksi etil asetat adalah 627,3943 ppm.

**Lampiran 20. Pengaruh Perlakuan Fraksi Air Daun Sembukan Terhadap
Larva Nyamuk *Aedes aegypti***

A. Replikasi 1

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	3
800	8
1200	15

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	3	12	3,82
800	2,9030	8	32	4,53
1200	3,0791	15	60	5,25

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -3,9939$$

$$b = 2,9777$$

$$r = 0,9891$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 5 &= -3,9939+2,9777x \\
 8,9939 &= 2,9777x \\
 x &= 3,0204 \\
 \text{antilog } x &= 3,0204 \\
 LC_{50} &= 1048,0934
 \end{aligned}$$

B. Replikasi 2

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	4
800	9
1200	16

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	4	16	4,01
800	2,9030	9	36	4,64
1200	3,0791	16	64	5,36

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -3,3399$$

$$b = 2,7971$$

$$r = 0,9834$$

$$y = a + bx$$

$$5 = -3,3399 + 2,7971x$$

$$8,3399 = 2,7971x$$

$$x = 2,9816$$

$$\text{antilog } x = 2,9816$$

$$LC_{50} = 958,5173$$

C. Replikasi 3

1. Jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi	Jumlah kematian larva
400	4
800	10
1200	18

2. Presentase kematian larva dan analisa probit

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

konsentrasi	Log konsentrasi	Jumlah kematian larva	% kematian	probit
400	2,602	4	16	4,01
800	2,9030	10	40	4,75
1200	3,0791	18	72	5,58

Persamaan garis lurus $y = a+bx$ diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y). harga LC_{50} dicari dari persamaan garis tersebut dimana $y = 5$ (probit persen kematian 50%) dari perhitungan regresi linear diperoleh :

$$a = -4,3796$$

$$b = 3,2011$$

$$r = 0,9833$$

$$\begin{aligned} y &= a+bx \\ 5 &= -4,3796+3,2011x \\ 9,3796 &= 3,2011x \\ x &= 2,9301 \\ \text{antilog } x &= 2,9301 \\ LC_{50} &= 851,3340 \end{aligned}$$

$LC_{50} (x)$	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
1048,0934		95,4418	9109,1372
958,5173	952,6516	5,8657	34,4064
851,3440		-101,3076	10263,2298
Σ			19406,7734

Analisis statistik yang digunakan dengan rumus :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{19406,7734}{3-1}} = 98,5057 \end{aligned}$$

$$2. SD = 2 \times 98,5057 = 197,0114$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{958,5173+851,3440}{2} = 904,9306$$

$$\text{Syarat} = |x - \bar{x}| \leq 2.SD$$

Kriteria penolakan: $|x - \bar{x}| < 2.SD \rightarrow$ data diterima

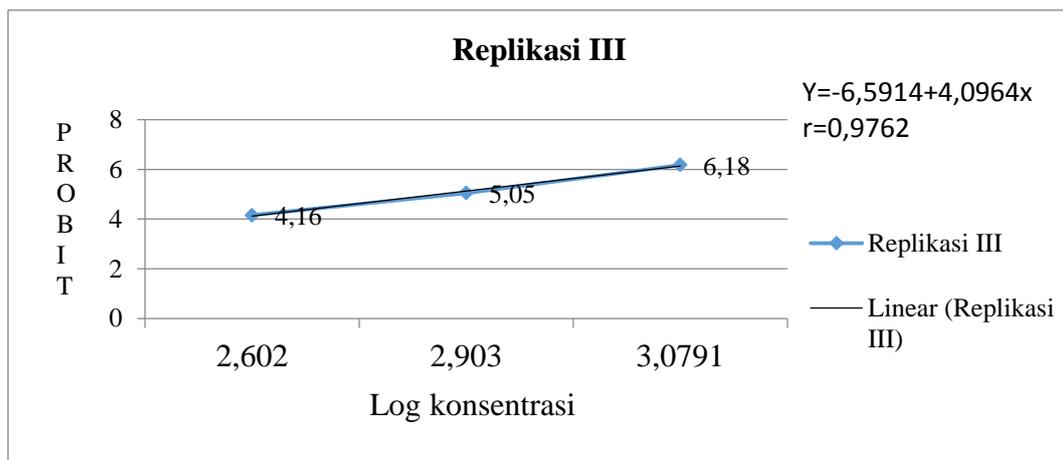
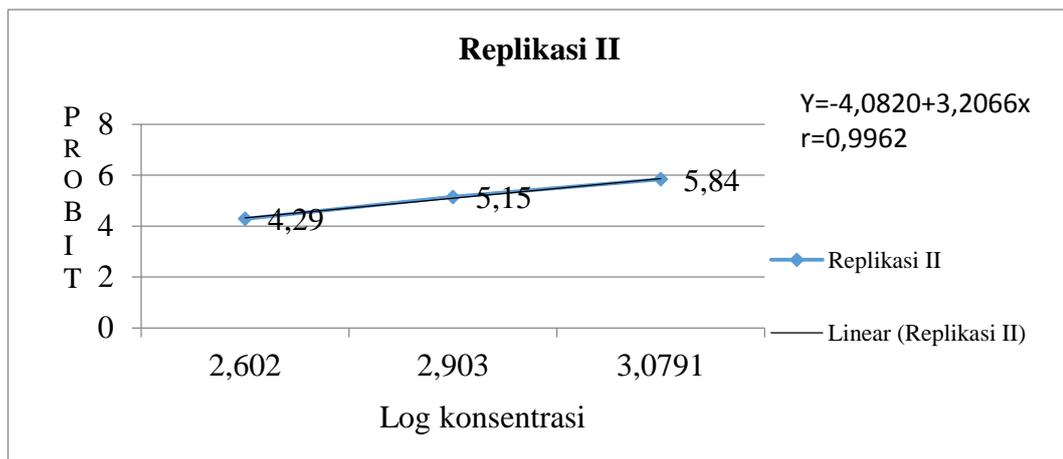
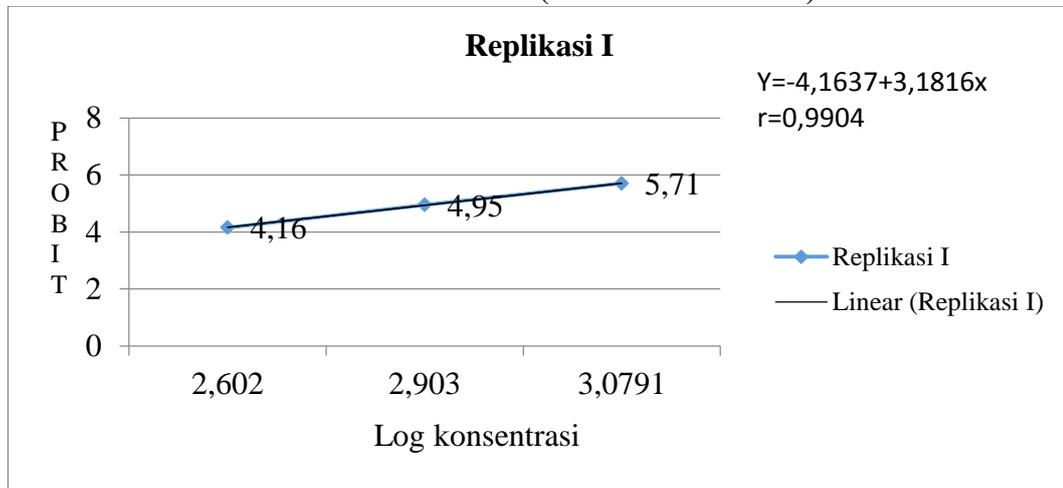
$|x - \bar{x}| > 2.SD \rightarrow$ data ditolak

$$|1048,0934 - 904,9306| = 143,1628 \leq 197,0115 \rightarrow \text{data}$$

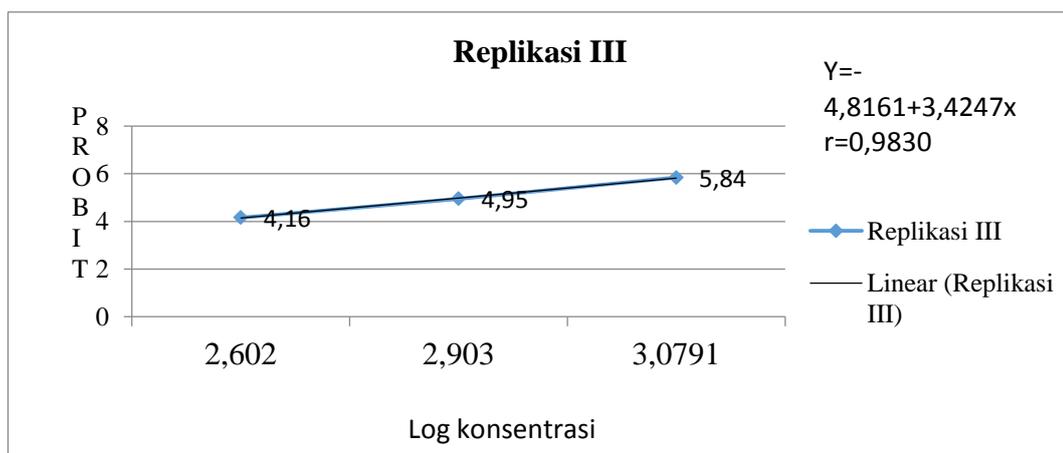
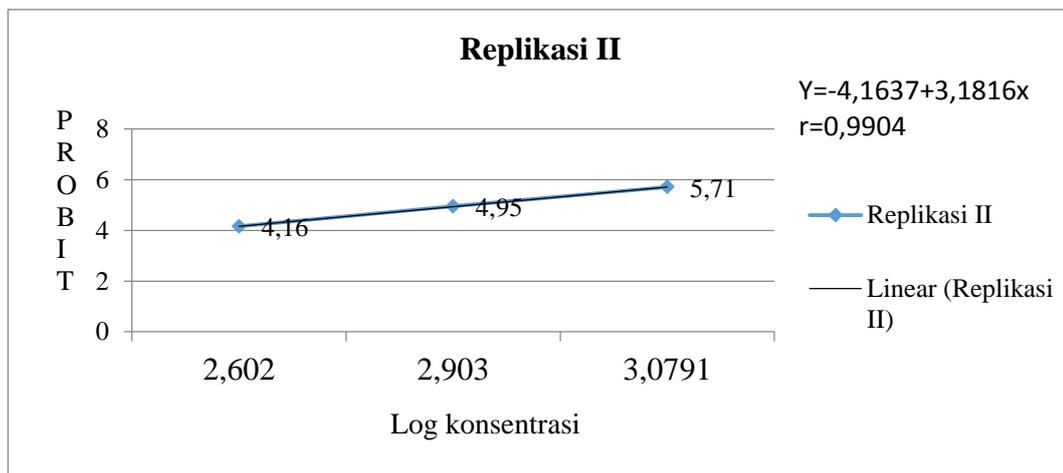
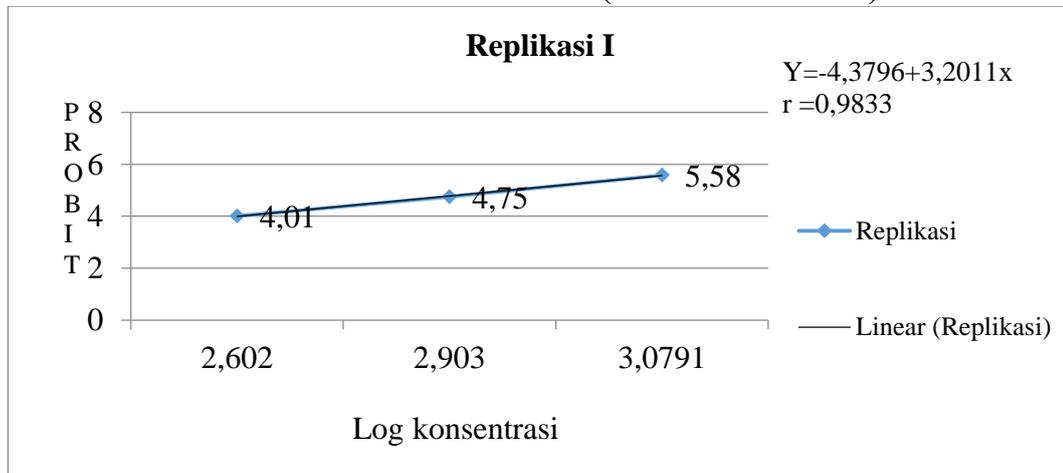
diterima

Jadi, LC_{50} fraksi air adalah 952,6516 ppm.

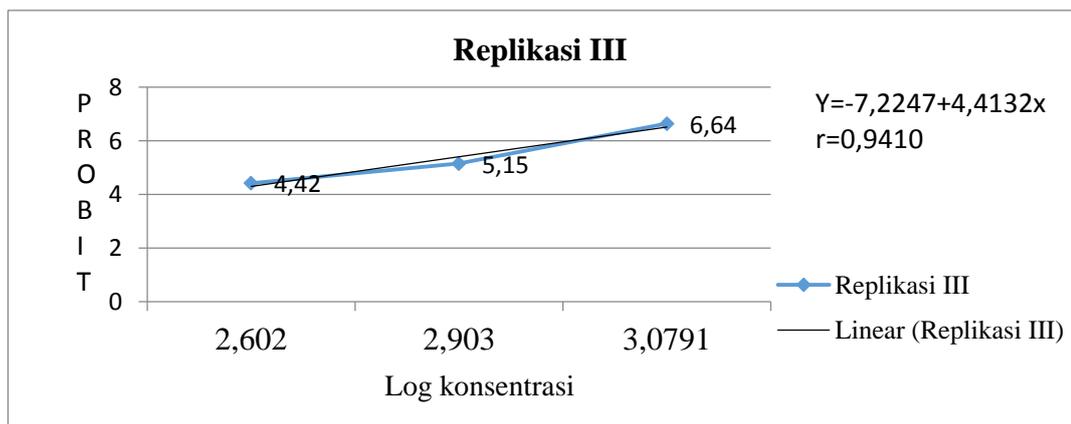
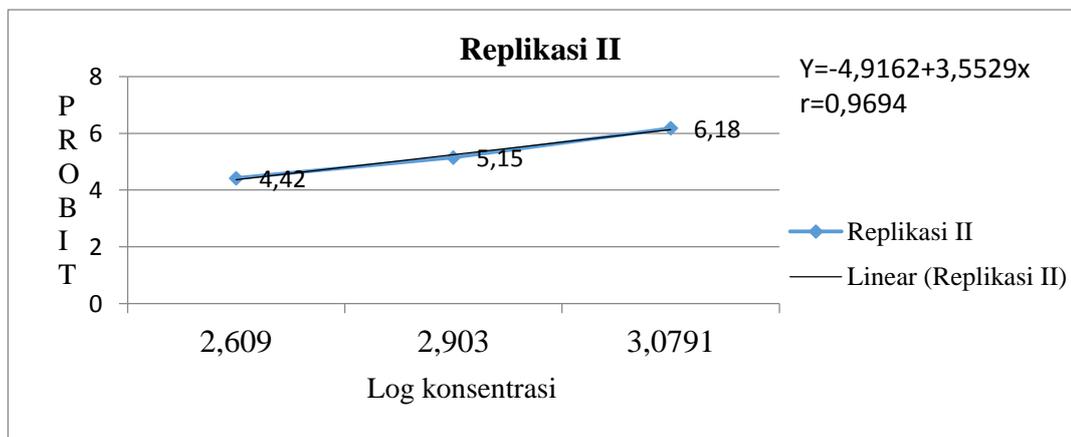
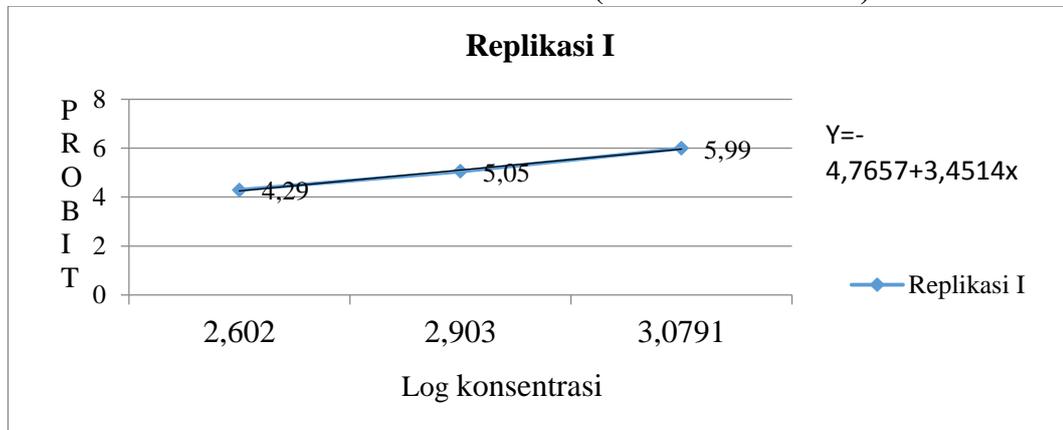
Lampiran 21. Grafik Hubungan Antara Log konsentrasi Dan Probit Ekstrak Etanol Daun Sembukan (*Paederia Foetida* L)



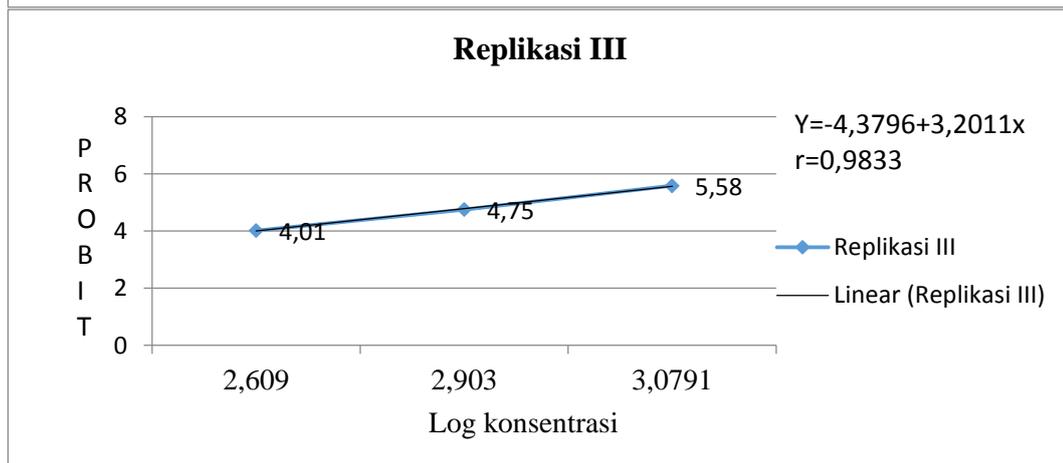
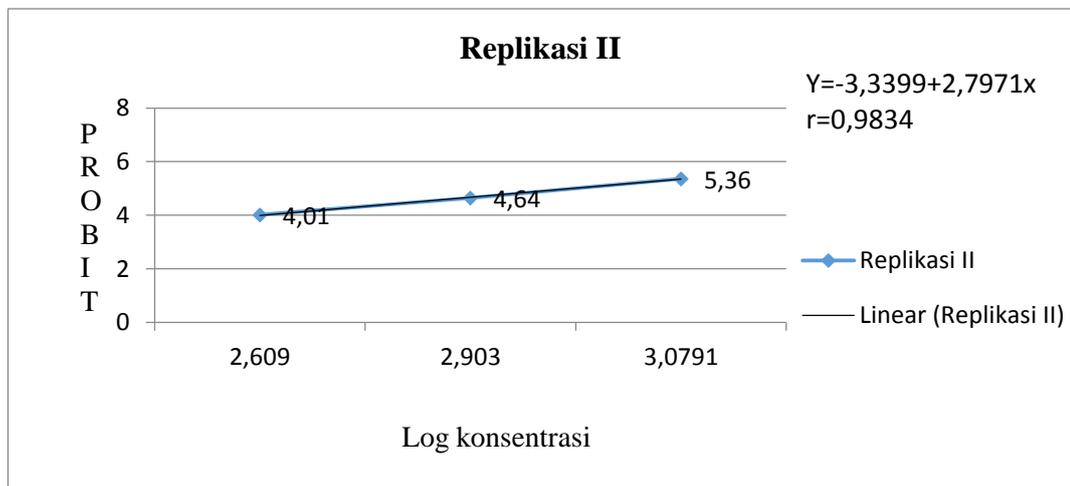
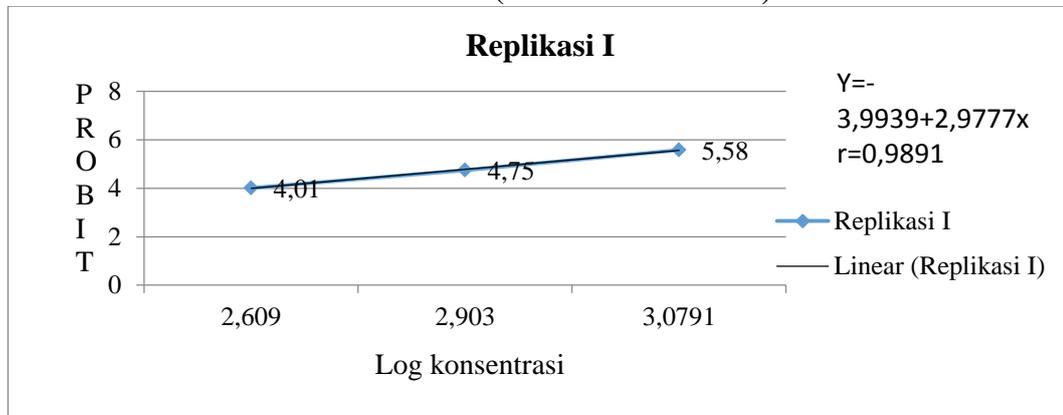
Lampiran 22. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi N-Heksana Daun Sembukan (*Paederia Foetida* L)



Lampiran 23. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan (*Paederia Foetida* L)



Lampiran 24. Grafik Hubungan Antara Log Konsentrasi Dan Probit Fraksi Air Daun Sembukan (*Paederia Foetida* L)



Lampiran 25. Data Analisa Hasil Perhitungan LC50 dan Persen Kematian Ekstrak Etanol, Fraksi *n*-Heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air.

NPARTESTS /K-S(NORMAL)=persen /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jumlah kematian	42	48.57	29.967	0	100

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah kematian
Normal Parameters ^{a, b}	N	42
	Mean	48.57
	Std. Deviation	29.967
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.111
	Negative	-.092
	Kolmogorov-Smirnov Z	.719
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.680

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ONEWAY persen BY kel /STATISTICS HOMOGENEITY /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

jumlah kematian

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.785	13	28	.097

ANOVA

jumlah kematian

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	36444.952	13	2803.458	210.259	.000
Within Groups	373.333	28	13.333		
Total	36818.286	41			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

jumlah kematian

Tukey HSD

					95% Confidence Interval	
(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
ekstrak400ppm	ekstrak800ppm	-30.667 [*]	2.981	.000	-41.58	-19.75
	esktrak1200ppm	-60.000 [*]	2.981	.000	-70.91	-49.09
	fraksi n-heksana400ppm	2.667	2.981	1.000	-8.25	13.58
	fraksi n-heksana800ppm	-24.000 [*]	2.981	.000	-34.91	-13.09
	fraksi n-heksana1200ppm	-54.667 [*]	2.981	.000	-65.58	-43.75
	fraksi etilasetat400ppm	-5.333	2.981	.863	-16.25	5.58
	fraksi etilasetat800ppm	-33.333 [*]	2.981	.000	-44.25	-22.42
	fraksi etilasetat1200ppm	-66.667 [*]	2.981	.000	-77.58	-55.75
	fraksi air 400ppm	6.667	2.981	.609	-4.25	17.58
	fraksi air800ppm	-14.667 [*]	2.981	.002	-25.58	-3.75
	fraksi air1200ppm	-44.000 [*]	2.981	.000	-54.91	-33.09
	kontrol positif	-78.667 [*]	2.981	.000	-89.58	-67.75
	kontrol negatif	21.333 [*]	2.981	.000	10.42	32.25
ekstrak800ppm	ekstrak400ppm	30.667 [*]	2.981	.000	19.75	41.58
	esktrak1200ppm	-29.333 [*]	2.981	.000	-40.25	-18.42
	fraksi n-heksana400ppm	33.333 [*]	2.981	.000	22.42	44.25
	fraksi n-heksana800ppm	6.667	2.981	.609	-4.25	17.58
	fraksi n-heksana1200ppm	-24.000 [*]	2.981	.000	-34.91	-13.09
	fraksi etilasetat400ppm	25.333 [*]	2.981	.000	14.42	36.25
	fraksi etilasetat800ppm	-2.667	2.981	1.000	-13.58	8.25
	fraksi etilasetat1200ppm	-36.000 [*]	2.981	.000	-46.91	-25.09
	fraksi air 400ppm	37.333 [*]	2.981	.000	26.42	48.25
	fraksi air800ppm	16.000 [*]	2.981	.001	5.09	26.91
	fraksi air1200ppm	-13.333 [*]	2.981	.007	-24.25	-2.42
	kontrol positif	-48.000 [*]	2.981	.000	-58.91	-37.09
	kontrol negatif	52.000 [*]	2.981	.000	41.09	62.91

esktrak1200ppm	ekstrak400ppm	60.000	2.981	.000	49.09	70.91
	ekstrak800ppm	29.333	2.981	.000	18.42	40.25
	fraksi n-heksana400ppm	62.667	2.981	.000	51.75	73.58
	fraksi n-heksana800ppm	36.000	2.981	.000	25.09	46.91
	fraksi n-heksana1200ppm	5.333	2.981	.863	-5.58	16.25
	fraksi etilasetat400ppm	54.667	2.981	.000	43.75	65.58
	fraksi etilasetat800ppm	26.667	2.981	.000	15.75	37.58
	fraksi etilasetat1200ppm	-6.667	2.981	.609	-17.58	4.25
	fraksi air 400ppm	66.667	2.981	.000	55.75	77.58
	fraksi air800ppm	45.333	2.981	.000	34.42	56.25
	fraksi air1200ppm	16.000	2.981	.001	5.09	26.91
	kontrol positif	-18.667	2.981	.000	-29.58	-7.75
	kontrol negatif	81.333	2.981	.000	70.42	92.25
	fraksi n-heksana400ppm	ekstrak400ppm	-2.667	2.981	1.000	-13.58
ekstrak800ppm		-33.333	2.981	.000	-44.25	-22.42
esktrak1200ppm		-62.667	2.981	.000	-73.58	-51.75
fraksi n-heksana800ppm		-26.667	2.981	.000	-37.58	-15.75
fraksi n-heksana1200ppm		-57.333	2.981	.000	-68.25	-46.42
fraksi etilasetat400ppm		-8.000	2.981	.338	-18.91	2.91
fraksi etilasetat800ppm		-36.000	2.981	.000	-46.91	-25.09
fraksi etilasetat1200ppm		-69.333	2.981	.000	-80.25	-58.42
fraksi air 400ppm		4.000	2.981	.982	-6.91	14.91
fraksi air800ppm		-17.333	2.981	.000	-28.25	-6.42
fraksi air1200ppm		-46.667	2.981	.000	-57.58	-35.75
kontrol positif		-81.333	2.981	.000	-92.25	-70.42
kontrol negatif		18.667	2.981	.000	7.75	29.58
fraksi n-heksana800ppm		ekstrak400ppm	24.000	2.981	.000	13.09
	ekstrak800ppm	-6.667	2.981	.609	-17.58	4.25
	esktrak1200ppm	-36.000	2.981	.000	-46.91	-25.09
	fraksi n-heksana400ppm	26.667	2.981	.000	15.75	37.58
	fraksi n-heksana1200ppm	-30.667	2.981	.000	-41.58	-19.75
	fraksi etilasetat400ppm	18.667	2.981	.000	7.75	29.58
	fraksi etilasetat800ppm	-9.333	2.981	.153	-20.25	1.58
	fraksi etilasetat1200ppm	-42.667	2.981	.000	-53.58	-31.75
	fraksi air 400ppm	30.667	2.981	.000	19.75	41.58
	fraksi air800ppm	9.333	2.981	.153	-1.58	20.25
	fraksi air1200ppm	-20.000	2.981	.000	-30.91	-9.09
	kontrol positif	-54.667	2.981	.000	-65.58	-43.75
	kontrol negatif	45.333	2.981	.000	34.42	56.25
	fraksi n-heksana1200ppm	ekstrak400ppm	54.667	2.981	.000	43.75
ekstrak800ppm		24.000	2.981	.000	13.09	34.91
esktrak1200ppm		-5.333	2.981	.863	-16.25	5.58
fraksi n-heksana400ppm		57.333	2.981	.000	46.42	68.25
	fraksi n-heksana800ppm	30.667	2.981	.000	19.75	41.58

	fraksi etilasetat400ppm	49.333 [*]	2.981	.000	38.42	60.25
	fraksi etilasetat800ppm	21.333 [*]	2.981	.000	10.42	32.25
	fraksi etilasetat1200ppm	-12.000 [*]	2.981	.021	-22.91	-1.09
	fraksi air 400ppm	61.333 [*]	2.981	.000	50.42	72.25
	fraksi air800ppm	40.000 [*]	2.981	.000	29.09	50.91
	fraksi air1200ppm	10.667 [*]	2.981	.060	-.25	21.58
	kontrol positif	-24.000 [*]	2.981	.000	-34.91	-13.09
	kontrol negatif	76.000 [*]	2.981	.000	65.09	86.91
fraksi etilasetat400ppm	ekstrak400ppm	5.333 [*]	2.981	.863	-5.58	16.25
	ekstrak800ppm	-25.333 [*]	2.981	.000	-36.25	-14.42
	ekstrak1200ppm	-54.667 [*]	2.981	.000	-65.58	-43.75
	fraksi n-heksana400ppm	8.000 [*]	2.981	.338	-2.91	18.91
	fraksi n-heksana800ppm	-18.667 [*]	2.981	.000	-29.58	-7.75
	fraksi n-heksana1200ppm	-49.333 [*]	2.981	.000	-60.25	-38.42
	fraksi etilasetat800ppm	-28.000 [*]	2.981	.000	-38.91	-17.09
	fraksi etilasetat1200ppm	-61.333 [*]	2.981	.000	-72.25	-50.42
	fraksi air 400ppm	12.000 [*]	2.981	.021	1.09	22.91
	fraksi air800ppm	-9.333 [*]	2.981	.153	-20.25	1.58
	fraksi air1200ppm	-38.667 [*]	2.981	.000	-49.58	-27.75
	kontrol positif	-73.333 [*]	2.981	.000	-84.25	-62.42
	kontrol negatif	26.667 [*]	2.981	.000	15.75	37.58
	fraksi etilasetat800ppm	ekstrak400ppm	33.333 [*]	2.981	.000	22.42
ekstrak800ppm		2.667 [*]	2.981	1.000	-8.25	13.58
ekstrak1200ppm		-26.667 [*]	2.981	.000	-37.58	-15.75
fraksi n-heksana400ppm		36.000 [*]	2.981	.000	25.09	46.91
fraksi n-heksana800ppm		9.333 [*]	2.981	.153	-1.58	20.25
fraksi n-heksana1200ppm		-21.333 [*]	2.981	.000	-32.25	-10.42
fraksi etilasetat400ppm		28.000 [*]	2.981	.000	17.09	38.91
fraksi etilasetat1200ppm		-33.333 [*]	2.981	.000	-44.25	-22.42
fraksi air 400ppm		40.000 [*]	2.981	.000	29.09	50.91
fraksi air800ppm		18.667 [*]	2.981	.000	7.75	29.58
fraksi air1200ppm		-10.667 [*]	2.981	.060	-21.58	.25
kontrol positif		-45.333 [*]	2.981	.000	-56.25	-34.42
kontrol negatif		54.667 [*]	2.981	.000	43.75	65.58
fraksi etilasetat1200ppm		ekstrak400ppm	66.667 [*]	2.981	.000	55.75
	ekstrak800ppm	36.000 [*]	2.981	.000	25.09	46.91
	ekstrak1200ppm	6.667 [*]	2.981	.609	-4.25	17.58
	fraksi n-heksana400ppm	69.333 [*]	2.981	.000	58.42	80.25
	fraksi n-heksana800ppm	42.667 [*]	2.981	.000	31.75	53.58
	fraksi n-heksana1200ppm	12.000 [*]	2.981	.021	1.09	22.91
	fraksi etilasetat400ppm	61.333 [*]	2.981	.000	50.42	72.25
	fraksi etilasetat800ppm	33.333 [*]	2.981	.000	22.42	44.25
	fraksi air 400ppm	73.333 [*]	2.981	.000	62.42	84.25
fraksi air800ppm	52.000 [*]	2.981	.000	41.09	62.91	

	fraksi air1200ppm	22.667 [*]	2.981	.000	11.75	33.58
	kontrol positif	-12.000 [*]	2.981	.021	-22.91	-1.09
	kontrol negatif	88.000 [*]	2.981	.000	77.09	98.91
fraksi air 400ppm	ekstrak400ppm	-6.667 [*]	2.981	.609	-17.58	4.25
	ekstrak800ppm	-37.333 [*]	2.981	.000	-48.25	-26.42
	esktrak1200ppm	-66.667 [*]	2.981	.000	-77.58	-55.75
	fraksi n-heksana400ppm	-4.000 [*]	2.981	.982	-14.91	6.91
	fraksi n-heksana800ppm	-30.667 [*]	2.981	.000	-41.58	-19.75
	fraksi n-heksana1200ppm	-61.333 [*]	2.981	.000	-72.25	-50.42
	fraksi etilasetat400ppm	-12.000 [*]	2.981	.021	-22.91	-1.09
	fraksi etilasetat800ppm	-40.000 [*]	2.981	.000	-50.91	-29.09
	fraksi etilasetat1200ppm	-73.333 [*]	2.981	.000	-84.25	-62.42
	fraksi air800ppm	-21.333 [*]	2.981	.000	-32.25	-10.42
	fraksi air1200ppm	-50.667 [*]	2.981	.000	-61.58	-39.75
	kontrol positif	-85.333 [*]	2.981	.000	-96.25	-74.42
	kontrol negatif	14.667 [*]	2.981	.002	3.75	25.58
	fraksi air800ppm	ekstrak400ppm	14.667 [*]	2.981	.002	3.75
ekstrak800ppm		-16.000 [*]	2.981	.001	-26.91	-5.09
esktrak1200ppm		-45.333 [*]	2.981	.000	-56.25	-34.42
fraksi n-heksana400ppm		17.333 [*]	2.981	.000	6.42	28.25
fraksi n-heksana800ppm		-9.333 [*]	2.981	.153	-20.25	1.58
fraksi n-heksana1200ppm		-40.000 [*]	2.981	.000	-50.91	-29.09
fraksi etilasetat400ppm		9.333 [*]	2.981	.153	-1.58	20.25
fraksi etilasetat800ppm		-18.667 [*]	2.981	.000	-29.58	-7.75
fraksi etilasetat1200ppm		-52.000 [*]	2.981	.000	-62.91	-41.09
fraksi air 400ppm		21.333 [*]	2.981	.000	10.42	32.25
fraksi air1200ppm		-29.333 [*]	2.981	.000	-40.25	-18.42
kontrol positif		-64.000 [*]	2.981	.000	-74.91	-53.09
kontrol negatif		36.000 [*]	2.981	.000	25.09	46.91
fraksi air1200ppm		ekstrak400ppm	44.000 [*]	2.981	.000	33.09
	ekstrak800ppm	13.333 [*]	2.981	.007	2.42	24.25
	esktrak1200ppm	-16.000 [*]	2.981	.001	-26.91	-5.09
	fraksi n-heksana400ppm	46.667 [*]	2.981	.000	35.75	57.58
	fraksi n-heksana800ppm	20.000 [*]	2.981	.000	9.09	30.91
	fraksi n-heksana1200ppm	-10.667 [*]	2.981	.060	-21.58	.25
	fraksi etilasetat400ppm	38.667 [*]	2.981	.000	27.75	49.58
	fraksi etilasetat800ppm	10.667 [*]	2.981	.060	-.25	21.58
	fraksi etilasetat1200ppm	-22.667 [*]	2.981	.000	-33.58	-11.75
	fraksi air 400ppm	50.667 [*]	2.981	.000	39.75	61.58
	fraksi air800ppm	29.333 [*]	2.981	.000	18.42	40.25
	kontrol positif	-34.667 [*]	2.981	.000	-45.58	-23.75
	kontrol negatif	65.333 [*]	2.981	.000	54.42	76.25
	kontrol positif	ekstrak400ppm	78.667 [*]	2.981	.000	67.75
ekstrak800ppm		48.000 [*]	2.981	.000	37.09	58.91

	esktrak1200ppm	18.667 [*]	2.981	.000	7.75	29.58
	fraksi n-heksana400ppm	81.333 [*]	2.981	.000	70.42	92.25
	fraksi n-heksana800ppm	54.667 [*]	2.981	.000	43.75	65.58
	fraksi n-heksana1200ppm	24.000 [*]	2.981	.000	13.09	34.91
	fraksi etilasetat400ppm	73.333 [*]	2.981	.000	62.42	84.25
	fraksi etilasetat800ppm	45.333 [*]	2.981	.000	34.42	56.25
	fraksi etilasetat1200ppm	12.000 [*]	2.981	.021	1.09	22.91
	fraksi air 400ppm	85.333 [*]	2.981	.000	74.42	96.25
	fraksi air800ppm	64.000 [*]	2.981	.000	53.09	74.91
	fraksi air1200ppm	34.667 [*]	2.981	.000	23.75	45.58
	kontrol negatif	100.000 [*]	2.981	.000	89.09	110.91
kontrol negatif	ekstrak400ppm	-21.333 [*]	2.981	.000	-32.25	-10.42
	ekstrak800ppm	-52.000 [*]	2.981	.000	-62.91	-41.09
	esktrak1200ppm	-81.333 [*]	2.981	.000	-92.25	-70.42
	fraksi n-heksana400ppm	-18.667 [*]	2.981	.000	-29.58	-7.75
	fraksi n-heksana800ppm	-45.333 [*]	2.981	.000	-56.25	-34.42
	fraksi n-heksana1200ppm	-76.000 [*]	2.981	.000	-86.91	-65.09
	fraksi etilasetat400ppm	-26.667 [*]	2.981	.000	-37.58	-15.75
	fraksi etilasetat800ppm	-54.667 [*]	2.981	.000	-65.58	-43.75
	fraksi etilasetat1200ppm	-88.000 [*]	2.981	.000	-98.91	-77.09
	fraksi air 400ppm	-14.667 [*]	2.981	.002	-25.58	-3.75
	fraksi air800ppm	-36.000 [*]	2.981	.000	-46.91	-25.09
	fraksi air1200ppm	-65.333 [*]	2.981	.000	-76.25	-54.42
	kontrol positif	-100.000 [*]	2.981	.000	-110.91	-89.09

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

jumlah kematian

Tukey HSD^a

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kontrol negatif	3	.00				
fraksi air 400ppm	3		14.67			
fraksi n-heksana400ppm	3		18.67	18.67		
ekstrak400ppm	3		21.33	21.33		
fraksi etilasetat400ppm	3			26.67	26.67	
fraksi air800ppm	3				36.00	36.00
fraksi n-heksana800ppm	3					45.33
ekstrak800ppm	3					
fraksi etilasetat800ppm	3					
fraksi air1200ppm	3					
fraksi n-heksana1200ppm	3					
esktrak1200ppm	3					
fraksi etilasetat1200ppm	3					
kontrol positif	3					
Sig.		1.000	.609	.338	.153	.153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

jumlah kematian

Tukey HSD^a

kelompok perlakuan	Subset for alpha = 0.05					
	6	7	8	9	10	11
fraksi n-heksana800ppm	45.33					
ekstrak800ppm	52.00					
fraksi etilasetat800ppm	54.67	54.67				
fraksi air1200ppm		65.33	65.33			
fraksi n-heksana1200ppm			76.00	76.00		
esktrak1200ppm				81.33	81.33	
fraksi etilasetat1200ppm					88.00	
kontrol positif						100.00
Sig.	.153	.060	.060	.863	.609	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

NPAR TESTS /K-S(NORMAL)=LC50 /MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		LC50
	N	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	769.0880
	Std. Deviation	136.45128
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.196
	Positive	.196
	Negative	-.093
	Kolmogorov-Smirnov Z	.680
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.744

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ONEWAY LC50 BY kelompokperlakuan /MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05).

Oneway

ANOVA

LC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	170691.712	3	56897.237	13.342	.002
Within Groups	34116.760	8	4264.595		
Total	204808.472	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LC50
Tukey HSD

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	Mean Difference (I-J)		
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
ESKTRAK	FRAKSI N HEKSANA	-67.10913	53.32038	.611
	FRAKSI ETIL ASETAT	87.19097	53.32038	.413
	FRAKSI AIR	-238.05290	53.32038	.009
FRAKSI N HEKSANA	ESKTRAK	67.10913	53.32038	.611
	FRAKSI ETIL ASETAT	154.30010	53.32038	.077
	FRAKSI AIR	-170.94377	53.32038	.050
FRAKSI ETIL ASETAT	ESKTRAK	-87.19097	53.32038	.413
	FRAKSI N HEKSANA	-154.30010	53.32038	.077
	FRAKSI AIR	-325.24387	53.32038	.001
FRAKSI AIR	ESKTRAK	238.05290	53.32038	.009
	FRAKSI N HEKSANA	170.94377	53.32038	.050
	FRAKSI ETIL ASETAT	325.24387	53.32038	.001

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

LC50
Tukey HSD

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
ESKTRAK	FRAKSI N HEKSANA	-237.8598	103.6415
	FRAKSI ETIL ASETAT	-83.5597	257.9416
	FRAKSI AIR	-408.8035	-67.3023
FRAKSI N HEKSANA	ESKTRAK	-103.6415	237.8598
	FRAKSI ETIL ASETAT	-16.4505	325.0507
	FRAKSI AIR	-341.6944	-.1931
FRAKSI ETIL ASETAT	ESKTRAK	-257.9416	83.5597
	FRAKSI N HEKSANA	-325.0507	16.4505
	FRAKSI AIR	-495.9945	-154.4932
FRAKSI AIR	ESKTRAK	67.3023	408.8035
	FRAKSI N HEKSANA	.1931	341.6944
	FRAKSI ETIL ASETAT	154.4932	495.9945

Homogeneous Subsets

LC50

Tukey HSD^a

Kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
FRAKSI ETIL ASETAT	3	627.4043	
ESKTRAK	3	714.5953	
FRAKSI N HEKSANA	3	781.7044	
FRAKSI AIR	3		952.6482
Sig.		.077	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 26. Tabel Probit

%	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