

**AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI POLAR EKSTRAK ETANOL 96%
BUAH CABAI JAWA (*Piper retrofractum* Vahl.) TERHADAP LARVA
NYAMUK *Anopheles aconitus* DAN *Aedes aegypti* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

**FIFIN AYUNINGTYAS WIDIASTUTI
K 100090091**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI POLAR EKSTRAK ETANOL 96%
BUAH CABAI JAWA (*Piper retrofractum* Vahl.) TERHADAP LARVA
NYAMUK *Anopheles aconitus* DAN *Aedes aegypti* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

Oleh :
FIFIN AYUNINGTYAS WIDIASTUTI
K 100090091

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Kamis
Tanggal : 14 Maret 2013

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,



Dr. Muhammad Da'i
Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Penguji I

Dr. Muhtadi
Dr. Muhtadi, M.Si

Penguji II

Ratna Yuliani
Ratna Yuliani, M.Biotech.St

Pembimbing Utama

Dr. Haryoto
Dr. Haryoto, M.Sc

Pembimbing Pendamping

Rima Munawaroh
Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa

Fifin Ayuningtyas Widiastuti
Fifin Ayuningtyas Widiastuti

**AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI POLAR EKSTRAK ETANOL 96%
BUAH CABAI JAWA (*Piper retrofractum* Vahl.) TERHADAP LARVA
NYAMUK *Anopheles aconitus* DAN *Aedes aegypti* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

***LARVICIDAL ACTIVITY OF POLAR FRACTION ETHANOL 96%
EXTRACT OF JAVANESE LONG PEPPER (*Piper retrofractum* Vahl.)
FRUIT AGAINST *Anopheles aconitus* AND *Aedes aegypti* WITH THIN
LAYER CHROMATOGRAPHY PROFILE***

Haryoto, Fifin Ayuningtyas Widiastuti, Rima Munawaroh
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

ABSTRAK

Larvasida hayati diperlukan untuk memberantas nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* yang merupakan vektor penyakit malaria dan demam berdarah di Indonesia. Aktivitas larvasida diketahui terdapat dalam tanaman famili Piperaceae yang diketahui memiliki kandungan senyawa alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* serta profil kromatografi lapis tipis senyawa alkaloid.

Metode yang digunakan eksperimental dengan *post test with control design*. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode kromatografi cair vakum dengan pelarut n-heksan:etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 5:5) v/v dan etanol. Fraksi polar yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji larvasida terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* dengan pengamatan setelah 24 jam. Hasil data kemudian dihitung menggunakan analisis probit metode Miller Tainter.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa memiliki aktivitas larvasida, dibuktikan dengan nilai LC₅₀ larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* < 100 ppm yaitu 13,72 ppm dan 80,43 ppm. Hal ini juga menunjukkan bahwa aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* lebih tinggi dibanding larva nyamuk *Aedes aegypti*. Profil kromatografi lapis tipis senyawa alkaloid fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa ditunjukkan warna orange coklat pada sinar tampak dengan R_f 0,75 dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak toluen:etil asetat (2:3) v/v serta pereaksi semprot Dragendorff.

Kata kunci: Larvasida, cabai jawa, *Anopheles aconitus*, *Aedes aegypti*, alkaloid.

ABSTRACT

*Biological larvicidal needed to eradicate the mosquito *Anopheles aconitus* and *Aedes aegypti* which are vectors of malaria and dengue fever in*

Indonesia. Activities larvicidal known to have the plant family as piperaceae contains alkaloid compounds. This study aims to determine the larvicidal activity of polar fraction ethanol 96% extract javanese long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) against larvae of *Anopheles aconitus* and *Aedes aegypti* with thin layer chromatography profiles of alkaloid compounds.

The method used by the experimental with post test with control design. Fractionation performed using vacuum liquid chromatography method with solvent n-hexane:ethyl acetate (9:1; 8:2; 7:3; 5:5) v/v and ethanol. Polar fraction obtained is then used to test larvicidal against mosquito larvae with a 24 hour observation. Outcome were calculated using probit analysis method Miller Tainter.

The results that the polar fraction of ethanol 96% extract javanese long pepper has larvicidal activity, evidenced by the mosquito larvae LC_{50} values *Anopheles aconitus* and *Aedes aegypti* <100 ppm namely 13.72 ppm and 80, 43 ppm. It also shows that the activity of the polar fraction larvicide javanese long pepper against *Anopheles aconitus* mosquito larvae higher than *Aedes aegypti* mosquito larvae. Thin layer chromatography profiles of alkaloid compounds polar fraction ethanol 96% extract of the fruit of javanese long pepper orange brown color shown in visible light with Rf 0.625 with silica GF₂₅₄ stationary phase and mobile phase toluene:ethyl acetate (2:3) v/v with reagent spray Dragendorff.

Keywords : Larvicidal, javanese long pepper, *Anopheles aconitus*, *Aedes aegypti*, alkaloid

PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan vektor penting dan utama untuk penyakit parah dan sangat menular ke manusia (Lokesh *et al.*, 2010). Vektor utama penyakit malaria di daerah Jawa adalah *Anopheles aconitus* (Alfiah *et al.*, 2010) dan pembawa utama virus yang menyebabkan penyakit demam berdarah pada daerah tropis adalah *Aedes aegypti* (Suirta *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011). Penyakit malaria dan demam berdarah merupakan penyakit endemik di Indonesia. Menurut catatan WHO sejak tahun 1968 sampai tahun 2009 negara Indonesia mendapat peringkat tertinggi di Asia Tenggara dalam kasus demam berdarah (Depkes, 2010). Sedangkan dalam kasus malaria angka kematian dari tahun 2006 sampai 2009 meningkat lebih dari dua kali lipat, dari 1,5% sampai 3,6% (Depkes, 2011).

Sebagai upaya memutus mata rantai penyebaran nyamuk tersebut adalah dengan cara pengendalian vektor nyamuk stadium pra dewasa (Alfiah *et al.*, 2010) menggunakan larvasida sintetis (Lailatul *et al.*, 2010). Salah satu larvasida sintetis

adalah bubuk abate, namun dinilai kurang efektif karena hanya bertahan beberapa minggu (Suirta *et al.*, 2007). Selain itu penggunaan larvasida sintetis yang terus-menerus dapat mengakibatkan dampak buruk, diantaranya mengakibatkan keracunan pada manusia, keracunan pada hewan ternak, polusi lingkungan, dan serangga menjadi resisten (Kalsum *et al.*, 2006). Sehingga diperlukan pengembangan larvasida baru yang tidak menimbulkan bahaya serta ramah lingkungan, hal ini dapat diperoleh melalui penggunaan larvasida hayati (Moehammadi, 2005).

Indonesia merupakan negara berkembang dengan sumber daya alam hayati melimpah, yaitu dengan tumbuhnya beranekaragam tanaman (Suirta *et al.*, 2007). Tanaman merupakan penghasil senyawa kimia alami, beberapa mempunyai fungsi sebagai larvasida hayati. Salah satu tanaman asli Indonesia yang berpotensi sebagai larvasida hayati adalah *Piper retrofractum* Vahl. (Chansang *et al.*, 2005). *Piper retrofractum* Vahl. (famili Piperaceae) berguna untuk mengusir dingin, menghilangkan nyeri (analgesik), peluruh keringat (diaforetik), peluruh kentut (karminatif), stimulan dan afrodisiak. Kandungannya terdiri dari zat pedas piperin, kavisin, asam palmitat, asam tetrahidropiperik, 1-undesilenil-3, 4-metildioksi benzen, piperidin, minyak atsiri, N-isobutildeka-trans-2-trans-4-dienamid, dan sesamin (Dalimartha, 2008). Adapun senyawa Piperaceae yang aktif sebagai larvasida antara lain alkaloid piperidin, isobutilamid, pipernonalin, pellitorin, guineensin, pipersid, piperin, dan retrofraktamid A (Park *et al.*, 2002; Lee, 2005).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa famili Piperaceae memiliki aktivitas larvasida diantaranya, fraksi polar ekstrak metanol *Piper longum* dan *Piper nigrum* terhadap larva *Aedes aegypti* dan *Culex pipiens pallens* (Lee, 2005; Park *et al.*, 2002). Ekstrak air buah *Piper retrofractum* Vahl. dan *Piper bettle* L. (Chansang *et al.*, 2005; Row *et al.*, 2009), ekstrak etanol *Piper longum* L., *Piper nigrum*, *Piper riboesoides* Wall., dan *Piper sarmentosum* Roxb. (Chaitong *et al.*, 2006; Simas *et al.*, 2007), ekstrak metanol *Piper bettle* dan *Piper longum* (Row *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2002), ekstrak minyak esensial *Piper auritum* dan *Piper bettle* (Leyva *et al.*, 2009; Row *et al.*, 2009), ekstrak heksan *Piper longum* dan *Piper nigrum* (Kumar *et al.*, 2011) memiliki aktivitas larvasida terhadap larva

Aedes Aegypti. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa ekstrak biji dan daun *Piper guineense* serta ekstrak minyak esensial *Piper nigrum* memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Anopheles gambiae* (Aina *et al.*, 2009; Ohaga *et al.*, 2007; Danji *et al.*, 2011). Berdasarkan hasil tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti*.

METODE PENELITIAN

Alat : *blender*, bejana kaca, *vacum rotary evaporator* (IKA®), pengaduk kayu, cawan porselen, *beaker glass* (Pyrex), batang pengaduk, kolom, vakum, gelas ukur, flakon, pipet larva, kontainer, pipet tetes, mikropipet (Socorex), labu takar 10 mL, gelas ukur 5 mL dan 100 mL, tusukgigi, *white tips*, pipa kapiler, bejana kromatografi, seperangkat alat penyemprot, lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Bahan : simplisia kering buah cabai jawa yang diperoleh dari pasar Gedhe Surakarta, etanol 96% teknis, larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga, Jawa Tengah, aseton pa, akuades, silika impreg (silika gel GF 60 Merck), n-heksan (teknis), etil asetat (teknis), fase diam (silika GF₂₅₄ (Merck)), fase gerak (toluen:etil asetat), pereaksi semprot Dragendorff.

Jalannya Penelitian

Ekstraksi

Serbuk kering buah cabai jawa ditimbang sebanyak 1 kg, kemudian ditempatkan dalam bejana gelas untuk maserasi. Serbuk direndam dalam etanol 96% sebanyak 7,5 L selama 5 hari sambil sering digojog, kemudian hasil maserasi disaring dengan kain flanel bersih sehingga didapatkan filtrat etanol dan ampas. Ampas diremaserasi 2 kali. Filtrat etanol yang didapat kemudian dievaporasi pada suhu 60°C, sehingga diperoleh ekstrak kental buah cabai jawa.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan optimasi fase gerak terlebih dahulu dengan perbandingan n-heksan:etil asetat untuk mendapatkan fase gerak yang paling baik

untuk proses KCV. Fase gerak yang diperoleh adalah n-heksan:etil asetat (4:1) v/v. Sebanyak 10 gram ekstrak etanol 96% ditimbang, kemudian 20 gram silika untuk impregnasi, dan 90 gram silika kolom. Ekstrak etanol 96% dimasukkan dalam kolom tidak dalam bentuk larutan, tetapi dicampur dengan silika impreg dengan perbandingan 1:2 v/v agar memperoleh pemisahan yang baik. Sebelum hasil impreg dimasukkan ke dalam kolom, kolom yang telah diisi dengan silika kolom dijenuhkan terlebih dahulu dengan memasukkan 150 mL n-heksan, divakum hingga kering. Setelah penjenuhan selesai, dilanjutkan proses KCV. Perbandingan fase gerak (n-heksan:etil asetat) dimulai dari yang paling non polar sampai semi polar (9:1; 8:2; 7:3; 5:5) v/v agar pemisahan semakin baik. Tiap perbandingan divakum sebanyak tiga kali sampai diperoleh dua belas flakon. Untuk memastikan semua komponen terelusi, ditambahkan pelarut yang lebih polar yaitu etanol dengan dua kali proses vakum dan hasilnya dimasukkan ke dalam flakon ke 13 dan 14. Setelah KCV selesai, untuk mengetahui bagian mana yang termasuk fraksi polar, semipolar, dan nonpolar, digunakan KLT. Lempeng KLT dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan fase gerak yang telah dioptimasi, yaitu n-heksan:etil asetat (4:1) v/v. Tiap-tiap hasil KCV ditotolkan, sehingga terdapat 14 totolan dan dilihat di UV 366 nm. Setelah diperoleh hasil, fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil evaporasi kemudian dimasukkan dalam cawan porselin dan diletakkan di atas *waterbath* hingga terbentuk massa dari cair menjadi kental.

Uji Larvasida

Larutan stok dibuat dengan melarutkan 500 mg fraksi polar ekstrak etanol buah cabai jawa dengan pelarut aseton 1% beberapa tetes, kemudian dilarutkan dalam akuades sampai 50 mL. Dari larutan stok dibuat lima seri konsentrasi untuk masing-masing larva dengan replikasi 4 kali. Seri konsentrasi yang dibuat untuk larva nyamuk *Anopheles aconitus* adalah 10, 30, 50, 70 dan 90 ppm. Sedangkan untuk larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah 50, 75, 100, 200, dan 300 ppm. Uji larvasida fraksi polar buah cabai jawa dilakukan dengan menyiapkan 6 kontainer plastik yaitu 5 kontainer untuk seri konsentrasi dan 1 kontainer untuk kontrol negatif. Larutan seri konsentrasi yang telah dibuat dimasukkan ke dalam

kontainer berbeda dan ditambah air sampai volume 100 mL. Kemudian dimasukkan 25 ekor larva nyamuk instar III untuk tiap kontainer. Sebagai kontrol negatif digunakan aseton 1% sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan air sampai volume 100 mL. Hal ini dilakukan sebanyak 4 kali replikasi untuk tiap konsentrasi dan diamati secara berkala selama 24 jam perlakuan. Pengamatan terhadap kematian larva dilakukan dengan menggoyang kontainer dan menyentuh larva dengan tusuk gigi, apabila larva tidak bergerak maka larva tersebut dikatakan mati. Hasil pengamatan kemudian diolah menggunakan analisis probit untuk memperoleh nilai LC₅₀ dan LC₉₀.

Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis dilakukan dengan menggunakan fase diam silika GF₂₅₄, fase gerak toluen:etil asetat (2:3) v/v dan untuk deteksi bercak digunakan pereaksi semprot Dragendorff.

Analisis Data

Metode yang digunakan untuk mencari LC₅₀ dan LC₉₀ adalah analisis probit secara manual dengan metode Miller Tainter (Rhandawa, 2009). Analisis probit dilakukan dengan menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam dan ditentukan persen kematiannya. Persen kematian dapat dihitung menggunakan rumus berikut.

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

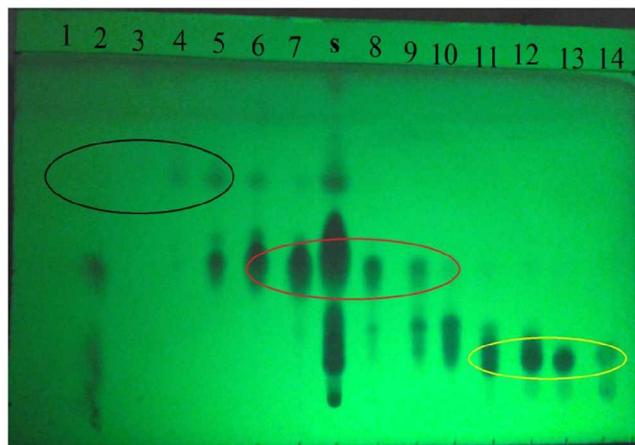
Ekstraksi Buah Cabai Jawa

Metode yang digunakan dalam ekstraksi cabai jawa adalah maserasi, karena mudah dilakukan dan peralatan relatif mudah diusahakan. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang hingga terjadi keseimbangan

konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Voight, 1995). Larutan penyari yang digunakan adalah etanol, karena etanol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga zat-zat non polar sampai polar dapat keluar (Voight, 1995). Serbuk kering buah cabai jawa ditimbang sebanyak 1 kg, selanjutnya ditempatkan dalam bejana kaca untuk maserasi. Ekstrak pekat yang diperoleh dari serangkaian proses ekstraksi sebanyak 195,40 gram dan diperoleh rendemen sebesar 19,54%.

Fraksinasi Ekstrak Etanol 96% Buah Cabai Jawa

Fraksinasi digunakan untuk mengelompokkan komponen campuran senyawa hasil ekstraksi atau maserasi agar lebih sederhana. Cara yang digunakan untuk melakukan fraksinasi salah satunya dengan kromatografi cair vakum menggunakan kolom silika gel. Optimasi fase gerak dilakukan terlebih dahulu menggunakan metode KLT agar mendapatkan hasil fraksi yang baik. Hasil optimasi terbaik diperoleh n-heksan:etil asetat (4:1) v/v. Kemudian dilakukan proses kromatografi vakum cair dengan pelarut yang tingkat kepolaran semakin meningkat yaitu n-heksan:etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 5:5) v/v masing-masing 3 kali elusi sebanyak 75 ml dimulai dari pelarut nonpolar ke polar dan etanol ditambahkan terakhir 2 kali elusi. Hasil KCV ditunjukkan pada KLT Gambar 1.



Gambar 1. KLT hasil fraksinasi dengan menggunakan kromatografi cair vakum

Keterangan : Fase diam: silika gel
Fase gerak: n-heksan:etil asetat (4:1) v/v
S = ekstrak buah cabe jawa
○ = fraksi nonpolar
○ = fraksi semipolar
○ = fraksi polar

Setelah mengetahui profil KLT tersebut, kemudian dilakukan penggabungan berdasarkan bercak yang sama. Nomor 1-5 digabung menjadi satu, dan disebut sebagai fraksi nonpolar. Nomor 6-10 sebagai fraksi semipolar dan nomor 11-14 disebut sebagai fraksi polar. Bercak fraksi polar berada paling bawah dibandingkan dengan bercak fraksi yang lain karena tertahan di fase diam yang bersifat polar.

Aktivitas Larvasida Fraksi Polar Ekstrak Etanol 96% buah Cabai Jawa terhadap Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti*

Uji pendahuluan dilakukan terlebih dahulu untuk mengetahui konsentrasi yang akan digunakan dalam uji sesungguhnya. Berdasarkan uji pendahuluan seri konsentrasi untuk larva nyamuk *Anopheles aconitus* sebesar 10, 30, 50, 70, 90 ppm dan 50, 75, 100, 200, 300 ppm untuk larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil uji aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	% X (kematian larva)				(X ± SD)%
	Replikasi				
	I	II	III	IV	
10 ppm	28	56	52	48	46±12,44
30 ppm	56	92	76	80	76±14,97
50 ppm	80	84	92	80	84±5,66
70 ppm	80	96	92	96	91±7,57
90 ppm	100	100	100	100	100±0,00
Kontrol negative	0	0	0	0	0±0,00

Pada konsentrasi fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terkecil yaitu, 10 ppm, didapatkan persen rata-rata larva *Anopheles aconitus* yang mati adalah 46% dari seluruh larva uji. Pada konsentrasi 30 ppm, didapatkan persen rata-rata larva *Anopheles aconitus* yang mati adalah 76% dari seluruh larva uji. Selanjutnya pada konsentrasi 50, 70 dan 90 ppm masing-masing memberikan persentase kematian larva *Anopheles aconitus* 84%, 91%, dan 100%. Pada kontrol yang mengandung aseton 1% didapatkan persen rata-rata jumlah larva nyamuk *Anopheles aconitus* yang mati setelah 24 jam, pada tiap-tiap pengulangan adalah 0% (Tabel 1).

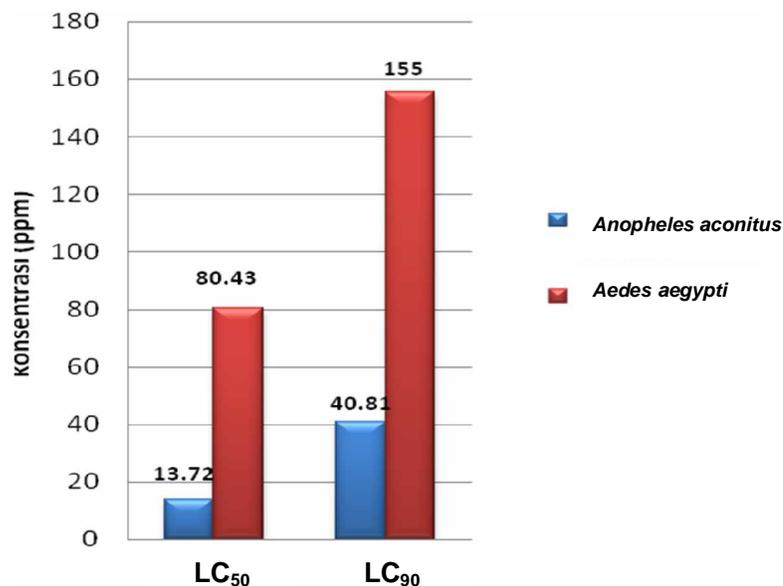
Tabel 2. Hasil uji aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	% X (Kematian larva)				(X ± SD)%
	Replikasi				
	I	II	III	IV	
50 ppm	28	24	24	28	26±2,31
75 ppm	28	36	32	24	30±5,16
100 ppm	80	68	68	76	73±6,00
200 ppm	88	84	80	88	85±3,83
300 ppm	100	100	100	100	100±0,00
Kontrol negative	0	0	0	0	0±0,00

Pada konsentrasi fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terkecil yaitu, 50 ppm, didapatkan persen rata-rata larva *Aedes aegypti* yang mati adalah 26% dari seluruh larva uji. Pada konsentrasi 75 ppm, didapatkan jumlah rata-rata larva *Aedes aegypti* yang mati adalah 30% dari seluruh larva uji. Selanjutnya pada konsentrasi 100, 200 dan 300 ppm masing-masing memberikan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* 73%, 85%, dan 100%. Pada kontrol yang mengandung aseton 1% didapatkan jumlah rata-rata jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati setelah 24 jam, pada tiap-tiap pengulangan adalah 0 (0%) (Tabel 2).

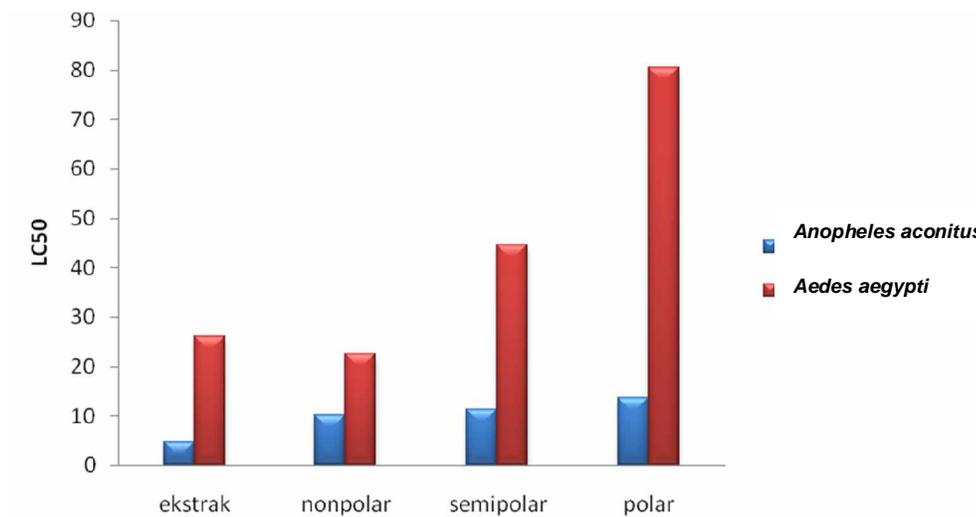
Pada Tabel 1 dan 2, dapat diambil kesimpulan bahwa semakin meningkat konsentrasi fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa maka semakin tinggi jumlah rata-rata kematian pada kedua larva uji. Selain itu, perlakuan kontrol negatif menunjukkan kematian 0% pada larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti*, hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh akibat pemberian aseton 1%. Sehingga dugaan kematian larva yang dipengaruhi aseton 1% dapat dihilangkan.

Tingkat aktivitas larvasida fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} . Suatu senyawa dikatakan aktif pada uji larvasida jika nilai LC_{50} yang diperoleh kurang dari 100 ppm (WHO, 2009). Hubungan ini berkaitan dengan efektivitas larvasida, korelasi besarnya nilai LC_{50} dengan konsentrasi ekstrak adalah semakin kecil LC_{50} maka semakin kecil konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk membunuh larva nyamuk sehingga semakin bagus efektivitas larvasida ekstrak tersebut (Susilowati *et al.*, 2009 *cit* Luhurningtyas, 2013).



Gambar 2. Nilai LC₅₀ dan LC₉₀ fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* setelah 24 jam perlakuan.

Tingkat toksisitas larvasida LC₅₀ dan LC₉₀ dapat dihitung dengan menggunakan analisis probit yang hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2. Nilai LC₅₀ dan LC₉₀ larva nyamuk *Anopheles aconitus* lebih rendah dibandingkan dengan larva nyamuk *Aedes aegypti*. Nilai LC₅₀ dan LC₉₀ larva nyamuk *Anopheles aconitus* berturut-turut yaitu 13,72 ppm dan 40,81 ppm. Sedangkan untuk larva nyamuk *Aedes aegypti* diperoleh nilai 80,43 ppm dan 155 ppm. Dengan membandingkan kedua hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa fraksi polar ekstrak etanol buah cabai jawa lebih toksik terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* daripada larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan ukuran larva nyamuk *Aedes aegypti* lebih besar daripada *Anopheles aconitus* (Ginanjari, 2008). Ukuran tubuh kecil berarti luas permukaan tubuh besar, memungkinkan *Anopheles aconitus* menyerap konsentrasi fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa lebih banyak daripada *Aedes aegypti*, sehingga menyebabkan *Anopheles aconitus* menjadi lemah dan jatuh ke dalam air yang diakhiri dengan kematian karena tidak mempunyai *siphon* (alat pernapasan di dalam air) (Ginanjari, 2008).



Gambar 3. Grafik LC₅₀ ekstrak etanol 96% buah cabai jawa dan fraksi nonpolar, semipolar, dan polar terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* pada pengamatan 24 jam.

LC₅₀ larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* setelah 24 jam pemberian ekstrak etanol, fraksi nonpolar, semipolar dan polar berturut-turut diperoleh hasil sebesar 4,69 dan 26 ppm, 10,09 dan 22,68 ppm, 11,39 dan 44,84 ppm, serta 13,72 dan 80,43 ppm (Gambar 3). Hasil ini menunjukkan potensi larvasida yang paling besar terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* adalah ekstrak buah cabai jawa lebih banyak dibanding fraksi-fraksinya ditunjukkan dengan adanya tiga bercak pada sampel sedangkan setiap fraksi hanya memiliki satu bercak (Gambar 1) (Vinay *et.al.*, 2012). Selain itu, pada Gambar 1, juga menunjukkan bahwa setiap fraksi dari non polar sampai polar memiliki bercak yang sejajar dengan sampel, sehingga dimungkinkan bercak tersebut memiliki aktivitas larvasida.

Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa tanaman famili Piperaceae memiliki aktivitas larvasida. Penelitian tersebut diantaranya, ekstrak air buah *Piper retrofractum* Vahl. memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Aedes Aegypti* dengan nilai LC₅₀ 79 ppm (Chansang *et al.*, 2005). Fraksi polar ekstrak metanol buah *Piper longum* dengan LD₅₀ 40 ppm terhadap larva *Aedes*

aegyti (Lee, 2005). Ekstrak metanol buah *Piper longum* dengan LC₅₀ 0,25 ppm (Yang *et al.*, 2002), ekstrak etanol buah *Piper Longum* L., dengan LC₅₀ 2,23 ppm serta buah *Piper nigrum* dengan LC₅₀ 0,98 ppm terhadap larva *Aedes aegyti* (Chaitong *et al.*, 2006; Simas *et al.*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa beberapa tanaman dari famili Piperaceae dengan pelarut polar memiliki potensi menghambat pertumbuhan larva nyamuk dengan LC₅₀ kurang dari 100 ppm.

Senyawa famili Piperaceae yang aktif sebagai larvasida adalah alkaloid (Park *et al.*, 2000; Lee, 2005). Senyawa tersebut berperan sebagai larvasida dengan cara menghambat enzim pernafasan berupa penghambatan sistem transpor elektron dan fosforilasi oksidatif. Penghambatan sistem transpor elektron ditandai dengan paralisis dan berakhir dengan kematian hal ini karena senyawa bioaktif menyerang proses transpor elektron NPNH dan NADH (Tarumingkeng, 1992). Larva uji yang mati setelah perlakuan mengalami perubahan morfologi diantaranya warna tubuh lebih gelap, ukuran tubuh tampak lebih panjang dan kaku, serta kepala yang hampir putus (Moehammadi, 2005).

Analisis Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Analisis kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika GF₂₅₄, fase gerak toluen:etil asetat (2:3) v/v, dan pereaksi semprot Dragendorff. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa mengandung senyawa alkaloid, terlihat setelah disemprot dengan Dragendorff dan dilihat pada sinar tampak menunjukkan warna orange coklat (Wagner & Baladt, 1996) dengan Rf 0,75. Lee (2005) menyebutkan bahwa senyawa yang berperan sebagai larvasida pada tanaman piperaceae adalah senyawa alkaloid.

KESIMPULAN

1. Fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) memiliki aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Aedes aegypti* yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ masing-masing yaitu 13,72 ppm dan 80,43 ppm.
2. Profil kromatografi lapis tipis senyawa alkaloid fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa ditunjukkan warna orange pada sinar tampak dengan

Rf 0,75 dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak toluen:etil asetat (2:3) v/v serta pereaksi semprot Dragendorff.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa fraksi polar ekstrak etanol 96% buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dengan mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab sebagai larvasida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, Jawa Tengah dan Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah banyak membantu demi terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aina, S. A., Banjo, A. D., Lawal, O. A., & Jonathan, K., 2009, Efficacy of Some Plant Extracts on *Anopheles gambiae* Mosquito Larvae, *Academic Journal of Entomology*, 2 (1), 31-35.
- Alfiah, S., Maharani I. P. A., & Boewono, D. T., 2010, Uji Efikasi Larvasida Berbahan Aktif Pyriproxyfen sebagai *Insect Growth Regulator (IGR)* terhadap Larva *Anopheles aconitus* di Laboratorium, *Jurnal Vektor & Reservoir Penyakit (VEKTORA)*, 2 (1).
- Chaitong, U., Choochote, W., Kamsuk, K., Jitpakdi, A., Tippawangkosol, P., Chaiyasit, D., Champakaew, D., Tuetun, B. & Pitasawat, B., 2006, Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), *Journal of Vector Ecology*, 31 (1), 138-144.
- Chansang, U., Zahiri, N. S., Bansiddhi, J., Boonruad, T., Thongsrirak, P., Mingmuang, J., Benjapong, N. & Mulla, M. S., 2005, Mosquito larvicidal activity of aqueous extracts of long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) from Thailand, *Journal of Vector Ecology*, 30 (2), 195-200.

- Dalimartha, S., 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*, 25-28, Jakarta, Trubus Agriwidya.
- Danji, G. A. F., Temesse, J. L., & Boyom, F., 2011, Adulticidal Effects of Essential Oils Extracts from *Capsicum annum* (Solanaceae) *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) on *Anopheles gambiae* (Diptera-Culicidae), Vektor of Malaria, *Journal of Entomology* 8 (2), 152-163.
- Depkes, 1995, *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes, 2010, Epidemiologi Demam Berdarah di Indonesia. *Buletin Jendela dan Informasi Kesehatan*, Kementerian RI, 2, 1-7.
- Depkes, 2011, Epidemiologi Malaria di Indonesia, *Buletin Jendela dan Informasi Kesehatan*, Kementerian RI, 1(1), 1-8.
- Ginanjar, G., 2008, *Apa Yang Dokter Anda Tidak Katakan Tentang Demam Berdarah*, Yogyakarta, Benteng Pustaka.
- Kalsum, U., Endarti, A. T., & Milliana, A., 2006, Uji Efek Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper lingum* BL.) terhadap Larva *Culex sp.* *Jurnal Penelitian Hayati*, 1 (1), 1-4.
- Kumar, S., Warikoo, R. & Wahab, N., 2011, Relative Larvicidal Efficacy of Three Species of Peppercorns against Dengue Fever Mosquito, *Aedes aegypti* L., *Journal Entomol Res. Soc.*, 13 (2), 27-36.
- Lailatul K, L., Kadarohman, A., & Eko, R., 2010, Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*, *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 1 (1), 59-65.
- Lee, Hoi Seon, 2005, Pesticidal Constituents Derived from Piperaceae Fruits, *Agric. Chem. Biotechnol.*, 48 (2), 65-74.
- Leyva, M., Carmen, M. M., Tacoronte, J. E., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., & Montada, D., 2009, Actividad Larvacida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae), *Rev. Boimed*, 20, 5-13.
- Lokesh, R., Barnabas, E.L., Saurav, K., Sundar, K., 2010, Larvicidal Activity of *Trigonella foenum* and *Nerium oleander* Leaves Against Mosquito Larvae Found in Vellore City, India, *Current Research Journal of Biological Sciences* 2 (3), 154-160.

- Luhurningtyas, F., 2013, Aktivitas Larvasida Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.) terhadap Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculates*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Moehammadi, N., 2005, Potensi Biolarvasida Ekstrak Herba *Ageratum conyzoides* Linn. & Daun *Saccopetalum horsfieldii* Benn. terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L., *Jurnal Berk. Penel. Hayati*, 10, 1-4.
- Ohaga, S. O., Ndiege, I. O., Kubasu, S. S., Beier, J. C., & Mbogo, C. M., 2007, Larvicidal Activity of *Piper guineense* and *Spilanthes mauritiana* Crude-Power Against *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* in Kilifi Distric, Kenya, *Journal of Biological Science* 7 (7), 1215-1220.
- Park, I. K., Lee, S. G., Shin, S. C., Park, J. D., and Ahn, Y. J., 2002, Larvicidal Activity of Isobutylamides Identified in *Piper nigrum* Fruits against Three Mosquito Species, *J. agric. Food Chem.*, 50, 1866-1870.
- Randhawa, M. A., 2009, Calculations of LD₅₀ Values from The Method of Miller and Tainter, 1944, *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad*, 21 (3), 184-185.
- Row, L. C. M., and Chiang, H. J., 2009, The Antimicrobial Activity, Mosquito Larvacidal Activity, Antioxidant Property and Tyrosinase Inhibition of *Piper betle*, *Journal of the C. Chemical Society*, 56, 653-658.
- Simas, K. N., Kosma, L. E., Kuster R. M., Luiz, S. L. C., & Filho, A. M. O., 2007, Potensial use of *Piper nigrum* Ethanol Extrac Against Pyrethroid-Resistant *Aedest aegypti* larvae, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropica*, 40 (4), 405-407.
- Suirta, I. W., Puspawati, N. M., dan Gurniati, N. K., 2007, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Nimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Larva Nyamuk Deman Berdarah (*Aedes aegypti*), *Jurnal Kimia*, 1 (2), 47-54.
- Susilowati, D., Rahayu, M. P., & Prastiwi, R., 2009, Efek Penolak Serangga Larvasida Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) terhadap *Aedes aegypti*, *Biomedika*, 2 (1), 31-39.
- Tarumingkeng, R. C., 1992, *Insektisida: sifat, mekanisme, kerja dan dampak penggunaannya*, Jakarta, UKKW.
- Vinay, S., Renuka, K., Palak, V., Harisha, C. R. & Prajapati PK., 2012, Pharmacognostical and phytochemical study of *Piper longum* L. and *Piper retrofractum* Vahl., *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1 (1), 62-66.

- Voight, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, 558-565, Yogyakarta, Gadjah Mada University Press.
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plan Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas, Second Edition*, 6, 126, 151, 152, 196, 197, Germany, Springer.
- World Health Organization, 2005, *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvacides*, WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.
- WHO, 2009, *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard*, Chapter 5: Acute Toxicity, Hal. 1-19, International Programme of Chemical Safety, Stuttgart.
- Yang, Y. C, Lee, S. G., Lee, H. K., Kim, M. K., Lee, Sang, H., and Lee, H. S., 2002, A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *J. Agric. Food Chem*, 50, 3765-3767.