

UJI EFEKTIVITAS LARVISIDA REBUSAN DAUN SIRIH (*PIPER BETLE L.*) TERHADAP LARVA *Aedes Aegypti* : STUDI PADA NILAI LC₅₀, LT₅₀, SERTA KECEPATAN KEMATIAN LARVA

Alkhonsa Adibah¹, Edi Dharmana²¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro²Staf Pengajar Ilmu Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang Pengendalian hayati terhadap larva *Aedes aegypti* semakin banyak digunakan, salah satunya dengan daun sirih. Ekstrak daun sirih efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* tetapi pembuatannya cukup rumit untuk dilakukan secara mandiri oleh masyarakat. Penggunaan rebusan daun sirih sebagai larvisida belum pernah diteliti.

Tujuan Membuktikan efektivitas larvisida rebusan daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap larva *Aedes aegypti*.

Metode Penelitian eksperimental menggunakan *Post-Test Only Control Group Design*. Jumlah sampel 700 ekor larva *Aedes aegypti* yang dibagi menjadi 7 kelompok dan diberi rebusan daun sirih dengan konsentrasi 0% untuk kelompok kontrol, dan konsentrasi 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6% untuk kelompok perlakuan. Tiap kelompok diulang empat kali. Jumlah larva yang mati diamati tiap 8 jam sampai 48 jam pengamatan. Uji statistik dilakukan analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀ dan LT₅₀. Dilakukan uji Kruskal-Wallis berulang dan uji korelasi Spearman dan Pearson.

Hasil Nilai LC₅₀ 5,556% dan LT₅₀ 117,491 jam. Pada uji Kruskal-Wallis tidak terdapat perbedaan jumlah mortalitas larva yang bermakna antar kelompok penelitian. Pada uji korelasi antara konsentrasi dan jumlah mortalitas larva tidak didapatkan korelasi yang bermakna tetapi terdapat korelasi yang bermakna ($p < 0,05$) pada jumlah mortalitas larva antar jam pengamatan hampir pada semua jam pengamatan. Tidak ada korelasi yang bermakna antara konsentrasi dan kecepatan kematian larva.

Kesimpulan Meskipun memiliki nilai LC₅₀ dan LT₅₀, rebusan daun sirih belum dapat dikatakan efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*.

Kata Kunci Rebusan daun sirih, *Piper betle L.*, larvisida, *Aedes aegypti*

ABSTRACT

LARVICIDAL EFFECTIVENESS TEST OF BOILED BETEL LEAF (*PIPER BETLE L.*) AGAINST *Aedes Aegypti* LARVAE : STUDIES IN VALUE OF LC₅₀, LT₅₀, AND THE RATE OF LARVAE MORTALITY

Background Biological control of *Aedes aegypti* larvae is used by communities nowadays, one of them is the using of betel leaf. Betel leaf extract is effective as larvicide of *Aedes aegypti* larvae, but the process of producing its extract is quite complex to do by the community independently. The use of boiled betel leaf as larvicide have not been investigated.

Aim To prove the effectivity of boiled betel leaf (*Piper betle L.*) as larvicide of *Aedes aegypti* larvae.

Methods This research used experimental study with Post-Test Only Control Group Design. The samples were 700 *Aedes aegypti* larvae randomized into 7 groups and given boiled betel leaf by 0% concentration for control, and 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6% concentration for other groups. Each group replicated 4 times. The amount of dead larvae observed every 8 hours in 48 hours. The analysis of data used probit analysis to count the LC₅₀ and the LT₅₀ value, repeated Kruskal-Wallis test, and correlation test of Spearman and Pearson.

Results The LC₅₀ value is 5,556% and the LT₅₀ value is 117,491 hours. Result from Kruskal-Wallis test showed that there were no significance differences of larvae mortality between each group. Results from correlation test showed that there were no significance correlations between concentration and amount of larvae mortality, but there were a significance correlations ($p < 0,05$) between observed hours of larvae mortality in almost all observed hours. There were no significance correlations between concentration and the rate of larvae mortality.

Conclusion Boiled betel leaf is not effective as larvicide of *Aedes aegypti* larvae yet, though it has the LC₅₀ and the LT₅₀ value.

Key Words Boiled betel leaf, Piper betle L., larvicide, *Aedes aegypti*

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan salah satu vektor utama dari penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD).¹ *Incidence Rate* penyakit DBD di Kota Semarang pada tahun 2014 masih cukup tinggi yaitu 92,43, sedangkan target nasional pencapaian *Incidence Rate* penyakit DBD adalah ≤ 51 per 100 ribu penduduk.² Beragam upaya dilakukan oleh Dinas Kesehatan untuk mencegah dan menanggulangi DBD, salah satu upaya primernya melalui pembasmian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan larvisida. Penggunaan larvisida umumnya dicampur pada genangan air di tempat nyamuk betina menaruh telurnya.¹

Larvisida yang umum digunakan oleh masyarakat adalah larvisida kimiawi *temephos* dengan merek dagang abate. Penggunaan larvisida kimiawi memang lebih efektif dan cepat dalam membasmi larva, tetapi jika penggunaannya tidak sesuai dengan dosis dan waktunya tidak teratur dapat menimbulkan resistensi.³ Selain itu, bahan kimiawi juga dianggap beracun oleh masyarakat sehingga masyarakat ragu untuk menggunakannya. Karenanya kini pengendalian hayati banyak dikembangkan sebagai larvisida.⁴

Salah satunya dengan menggunakan bahan alami tumbuhan daun sirih (*Piper betle* L.) yang banyak ditemui di kawasan Asia tropis seperti Indonesia dan ekstraknya telah terbukti paling efektif untuk membasmi larva nyamuk *Aedes aegypti* diantara larvisida alami lainnya.^{5,6} Pada penelitian sebelumnya didapatkan hasil bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle*

L.) berpengaruh terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* dengan kadar LC_{50} sebesar 0,046% dan LC_{90} 0,1031% setelah 24 jam pajanan.⁶ Dari hasil penapisan fitokimia pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa daun sirih mengandung tanin, steroid, flavonoid, dan kuinon. Daun sirih juga mengandung minyak atsiri yang terdiri dari hidroksichavicol dan asam lemak yang bersifat antibakterial dan antiseptik.^{5,6,7}

Saat ini ekstrak daun sirih yang digunakan sebagai larvisida belum populer di masyarakat, karena prose pembuatannya yang cukup rumit dan memakan waktu lama sehingga sulit dilakukan oleh masyarakat secara mandiri.

Masyarakat sehat yang mandiri dan berkeadilan merupakan visi dari kementerian kesehatan periode 2014-2019. Salah satu kriteria suatu masyarakat dikatakan mandiri dalam bidang kesehatan ialah jika masyarakat mampu mengatasi masalah kesehatan secara mandiri dengan mengenali potensi-potensi masyarakat setempat.⁸ Dibutuhkan metode lain yang lebih mudah dan dapat diimplementasikan langsung oleh masyarakat untuk menggunakan daun sirih tersebut, salah satunya adalah dengan direbus. Air rebusan daun sirih banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk berbagai masalah kesehatan, akan tetapi belum diketahui tingkat efektivitasnya sebagai larvisida.

Berdasarkan hal tersebut diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas rebusan daun sirih sebagai larvisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

METODE

Penelitian eksperimental laboratorium murni dengan *post test only control group design* yang dilakukan di laboratorium parasitologi FK Undip. Sampel pada penelitian didapatkan dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi pada penelitian adalah larva *Aedes aegypti* yang sudah mencapai instar III/IV dan bergerak aktif. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah larva yang sudah berubah menjadi pupa atau nyamuk dewasa dan sudah mati sebelum diberi perlakuan.

Penelitian dilakukan dengan menganalisis hasil pengamatan pada kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum perlakuan karena telah dilakukan randomisasi dengan *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 7 kelompok dan diberi rebusan daun sirih dengan konsentrasi 0% untuk kelompok kontrol, dan

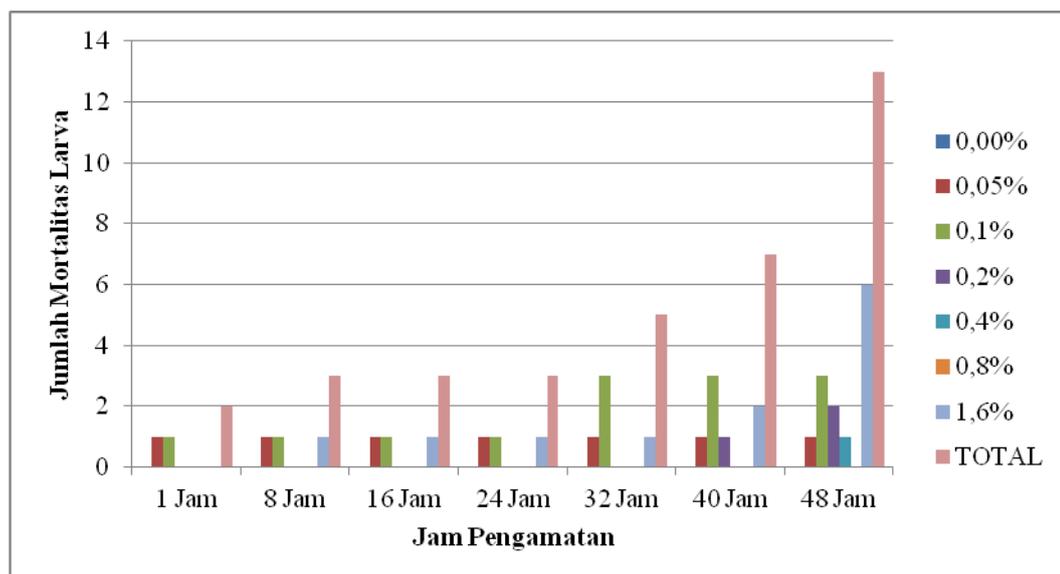
konsentrasi 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6% untuk kelompok perlakuan. Tiap kelompok diulang empat kali, dengan tiap kontainer berisi 25 ekor larva sehingga dibutuhkan 700 ekor larva untuk penelitian ini. Jumlah larva yang mati diamati tiap 8 jam sampai 48 jam pengamatan.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian air rebusan daun sirih. Sedangkan variabel terikatnya adalah kematian larva *Aedes aegypti* yang dinilai dari *Lethal Concentration 50 (LC₅₀)*, *Lethal Time 50 (LT₅₀)* dan kecepatan kematian larva (ekor/jam).

Hasil pengamatan pada kelompok kontrol dan perlakuan diolah dan dianalisis menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} dan LT_{50} , dan uji Kruskal-Wallis berulang untuk menganalisis perbedaan antar kelompok serta uji korelasi Spearman dan Pearson untuk melihat hubungan antar variabel.

HASIL

Seiring pertambahan waktu jumlah larva yang mati juga akan meningkat. Pada konsentrasi rebusan daun sirih 0,05% dan 0,1% terdapat larva yang mati setelah satu jam, pada konsentrasi 1,6% setelah 8 jam, pada konsentrasi 0,2% setelah 40 jam, dan pada konsentrasi 0,4% setelah 48 jam. Jumlah larva yang mati pada tiap kelompok per 8 jam pengamatan dapat dilihat pada grafik 1.



Dari analisis probit diketahui bahwa konsentrasi rebusan daun sirih yang dapat menyebabkan kematian 50% larva adalah 5,556%. Komponen utama pada toksisitas suatu insektisida adalah dosis yang dilihat dari nilai LC_{50} . Terdapat ambang batas (*threshold*) dosis

yang tidak menyebabkan efek dan ketika respon pertama muncul maka akan terjadi kenaikan respon seiring kenaikan dosis.⁹ Semakin tinggi konsentrasi rebusan daun sirih maka semakin tinggi kandungan bahan aktif yang masuk kedalam larva *Aedes aegypti* dan menyebabkan mortalitas. Pada penelitian ini jumlah mortalitas larva pada tiap kelompok tidak jauh berbeda yang mungkin disebabkan karena terlalu kecilnya dosis sehingga respon yang dihasilkan juga minimal, dilihat dari nilai LC₅₀ yang lebih tinggi dari kelompok penelitian.

Sedangkan waktu yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian 50% larva adalah 117,491 jam. *Lethal time* 50 tersebut didapatkan dari konsentrasi terbesar yaitu 1,6%. dan nilai tersebut tidak bisa diaplikasikan pada penelitian yang membutuhkan larva instar III/IV karena dalam 117,491 jam larva sudah berubah menjadi pupa. (11–12)

Tabel 1. Hasil Analisis Probit LC₅₀ dan LT₅₀

	95% Confidence Limits		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
LC ₅₀ (%)	5,556	3,305	30,552
LT ₅₀ (Jam)	117,491	81,858	333,433

Untuk kecepatan kematian larva, didapatkan angka yang rendah pada sebagian besar jam pengamatan. Kecepatan kematian larva dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kecepatan Kematian Larva

Konsentrasi Rebusan Daun Sirih	Jam Pengamatan						
	1 Jam	8 Jam	16 Jam	24 Jam	32 Jam	40 Jam	48 Jam
0,00%	0	0	0	0	0	0	0
0,05%	1,0000	0,1250	0,0625	0,0417	0,0313	0,0250	0,0208
0,1%	1,0000	0,1250	0,0625	0,0417	0,0938	0,0750	0,0625
0,2%	0	0	0	0	0	0,0250	0,0417
0,4%	0	0	0	0	0	0	0,0208
0,8%	0	0	0	0	0	0	0
1,6%	0	0,1250	0,0625	0,0417	0,0313	0,0500	0,1250

Uji Kruskal-Wallis dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah mortalitas larva pada masing-masing kelompok, dandidapatkan hasil bahwa tidak ada nilai p yang lebih kecil dari 0,05 sehingga H₀ diterima atau tidak terdapat perbedaan antara 2 kelompok.¹⁰

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis Berulang

Jam Pengamatan	P
1 jam	0,519
8 jam	0,633
16 jam	0,633
24 jam	0,633
32 jam	0,271
40 jam	0,308
48 jam	0,154

Tidak terdapat korelasi antara peningkatan konsentrasi dengan jumlah mortalitas larva pada tiap jam pengamatan, tetapi terdapat korelasi yang bermakna pada jumlah mortalitas antar jam pengamatan hampir pada semua jam pengamatan, sebagaimana ditunjukkan oleh tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Korelasi Mortalitas Larva

Koeffisien korelasi (R)							
Nilai p							
	Mortalitas pada jam ke-1	Mortalitas pada jam ke-8	Mortalitas pada jam ke-16	Mortalitas pada jam ke-24	Mortalitas pada jam ke-32	Mortalitas pada jam ke-40	Mortalitas pada jam ke-48
Konsentrasi	-0,208 0,288	0,000 1,000	0,000 1,000	0,000 1,000	-0,056 0,776	0,074 0,707	0,267 0,169
Mortalitas pada jam ke-1	-	0,801 0,000	0,801 0,000	0,801 0,000	0,650 0,000	0,505 0,006	0,334 0,083
Mortalitas pada jam ke-8		-	1,000 -	1,000 -	0,811 0,000	0,631 0,000	0,512 0,005
Mortalitas pada jam ke-16			-	1,000 -	0,811 0,000	0,631 0,000	0,512 0,005
Mortalitas pada jam ke-24				-	0,811 0,000	0,631 0,000	0,512 0,005
Mortalitas pada jam ke-32					-	0,800 0,000	0,639 0,000
Mortalitas pada jam ke-40						-	0,756 0,000

Untuk korelasi antara peningkatan konsentrasi dan kecepatan kematian larva juga didapatkan hasil yang tidak bermakna, ditunjukkan oleh nilai p yang kurang dari 0,05 dan nilai koefisien korelasi (R) pada baris pertama tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Korelasi Kecepatan Kematian Larva

Koefisien korelasi (R)							
Nilai p							
	V 1 jam	V 8 jam	V 16 jam	V 24 jam	V 32 jam	V 40 jam	V 48 jam
Konsentrasi	-0,474	0,000	0,000	0,000	-0,060	0,150	0,669
	0,282	1,000	1,000	1,000	0,899	0,748	0,100

Pada penelitian ini digunakan rebusan daun sirih, dimana diketahui bahwa daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung alkaloid dan minyak atsiri dengan kandungan utamanya yaitu chavicol.¹¹ Chavicol dapat menghambat enzim asetilkolinesterase pada larva sehingga proses hidrolisis asetilkolin menjadi asetat dan choline akan terganggu dan terjadi penumpukan asetilkolin yang mengakibatkan impuls saraf tidak dapat dihentikan.^{12,13} Alkaloid akan menghambat enzim yang bekerja pada metabolisme cAMP yang penting dalam transduksi sinyal.¹⁴ Bahan bahan tersebut mengakibatkan kematian larva *Aedes aegypti* seperti yang ditunjukkan pada kelompok perlakuan penelitian yang diberi rebusan daun sirih.

Meskipun memiliki nilai LC₅₀ dan LT₅₀, rebusan daun sirih belum dapat dikatakan efektif secara statistik. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi toksisitas rebusan daun sirih, seperti toksisitas intrinsik bahan yang dapat dilihat dari segi kimia dan fisiknya dan dosis. Diantara sifat kimia yang berpengaruh adalah stabilitas dan kelarutannya.¹⁵ Salah satu bahan aktif daun sirih yaitu alkaloid bersifat basa dan mudah terdekomposisi oleh panas dan sinar matahari. Hal ini dapat berpengaruh pada kandungan alkaloid daun sirih ketika direbus pada suhu yang tinggi. Kandungan terpenoid atau minyak atsirinya memiliki sifat yang mudah menguap. Kemudian dilihat dari kelarutannya alkaloid pada daun sirih sangat larut pada pelarut organik tetapi sukar larut dalam air.¹⁶ Sehingga, berdasarkan sifat kimia tersebut dibutuhkan dosis yang lebih besar dalam pemanfaatan rebusan daun sirih.

Pada penelitian didapatkan suatu anomali yaitu pada konsentrasi yang rendah (0,05% dan 0,1%) didapatkan kematian lebih awal dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih

tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh kesalahan teknis dari peneliti selama poses pemindahan larva dan pemberian rebusan daun sirih. Perlu diperhatikan dengan seksama setiap langkah langkah kerja dalam penelitian.

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan seperti tidak dilakukannya uji fitokimia terhadap kandungan rebusan daun sirih sehingga tidak tahu dengan pasti kandungan pada rebusan daun sirih yang dapat berpengaruh pada kematian larva *Aedes aegypti*, dan tidak adanya prosedur yang terstandar mengenai pembuatan rebusan sebagai larvisida. Sehingga penelitian ini dapat digolongkan pada penelitian awal untuk penentuan dosis pada penelitian selanjutnya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Tidak terdapat hubungan yang bermakna dalam peningkatan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* per satuan waktu seiring peningkatan konsentrasi rebusan daun sirih secara statistik, sehingga belum ada simpulan baku yang menjelaskan efektivitas rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) dalam membunuh larva *Aedes aegypti*.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya dengan menggunakan rebusan daun sirih dapat memperbesar dosis yang digunakan dan mempertimbangkan hambatan hambatan yang akan ditemui ketika diaplikasikan pada masyarakat. Diperlukan juga penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan kandungan aktif antara rebusan dan ekstrak daun sirih, sehingga penentuan dosis untuk penggunaan rebusan dapat mengacu dari konversi bahan aktif tersebut.

Untuk masyarakat dapat menggunakan ekstrak daun sirih sebagai larvisida terhadap larva *Aedes aegypti* karena sudah terbukti efektif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedarto. Demam Berdarah Dengue, Dengue Haemorrhagic Fever. Jakarta: Sagung Seto; 2012.
2. Dinas kesehatan kota semarang. Profil Kesehatan Kota Semarang 2014. Dinas Kesehatan Kota Semarang. 2014;100.

3. Ahmad I, Astari S, Tan M. Resistance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in 2006 to pyrethroid insecticides in Indonesia and its association with oxidase and esterase levels. *Pakistan J Biol Sci.* 2007;10(20):3688–92.
4. Yanti S AO, Boewono DT, Hestningsih R. Vector Resistance Status of Dengue Hemorrhagic Fever (*Aedes Aegypti*) in the Sidorejo District Salatiga City against Temephos (Organophosphates) [Internet]. *Vektora.* 2012. Available from: <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/vk/article/view/3495>
5. Moeljanto RD. Khasiat dan Manfaat Daun Sirih : Obat Mujarab dari Masa ke Masa. 1st ed. Tetty, editor. Jakarta: Agro Media Pustaka; 2003. 77 p.
6. Aulung ACC. Daya Larvisida Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti L*. *Maj Kedokt FK UKI.* 2010;XXVII(1):7–14.
7. Nalina T, Rahim ZHA. The Crude Aqueous Extract of *Piper betle L*. and Its Antibacterial Effect towards *Streptococcus mutans*. *Am J Biochem Biotechnol.* 2007;3(1):10–5.
8. Notoatmodjo S. Ilmu perilaku kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta. 2010;20–40.
9. Burcham PC. An introduction to toxicology. *An Introduction to Toxicology.* 2014. 1-327 p.
10. Dahlan MS. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. 6th ed. Jakarta: Epidemiologi Indonesia; 2014. 1-301 p.
11. Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P. Golden Heart of the Nature : *Piper betle L* . *J Pharmacogn Phytochem.* 2013;1(6):147–67.
12. Valles SM, Koehler PG. Insecticides Used in the Urban Environment : Mode of Action. *Univ Florida, Inst Food Agric Sci Ext.* 2003;1–4.
13. Puangsomchit A. Searching For a New Environmentally-Friendly Botanical Insecticide from the Rhizomes of *Alpinia Galanga*. *Kasetsart University;* 2014.
14. Cordell GA. *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology* [Internet]. Elsevier Science; 1993. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=8ln8WHFw1wIC>
15. Burcham PC. An introduction to toxicology. *An Introduction to Toxicology.* 2014. 1-327 p.
16. Lenny S. *Senyawa Flavonoida , Fenilpropanoida dan Alkaloida.* Universitas Sumatera Utara; 2006.