

APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Segala puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya serta kesehatan sehingga penulisan buku ini dapat terselesaikan. Ide yang terdapat dalam buku APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti* sebagai luaran wajib dalam hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) dari RISTEDIKTI tahun 2019.

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi salah satu permasalahan di Indonesia. Tingginya tingkat kematian yang terjadi di Indonesia yang disebabkan oleh DBD sehingga perlu dilakukan pemutusan mata rantai yang aman terhadap lingkungan dan kesehatan masyarakat. Kandungan zat berkhasiat pada daun pepaya diperoleh melalui proses ekstraksi sederhana dengan merendam daun pepaya menggunakan pelarut organik yang kemudian pelarut diuapkan dengan menggunakan evaporator sehingga dapat diperoleh ekstrak murni yang tidak mengandung bahan kimia. Penelitian ini dimulai dengan pengolahan daun pepaya yang dikeringkan lalu diserbukkan sehingga mudah diekstraksi. Jenis penelitian ini adalah Eksperimental Semu untuk melihat pengaruh ekstrak daun Pepaya (*Carica papaya* linn) terhadap kematian larva *Aedes aegypti*.

Materi yang disajikan di dalam buku ini bersifat umum dan berguna bagi mahasiswa yang mempelajari mengenai perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dan manfaat Daun Pepaya. Isi dalam buku referensi ini memberikan pengetahuan mengenai manfaat daun pepaya sebagai biolarvasida yang umumnya dilakukan yang mudah dipahami oleh mahasiswa.

Rasa terima kasih kami sampaikan kepada jajaran pimpinan dan rekan sejawat di Akademi Farmasi Surabaya yang telah mendukung penerbitan buku ini. Semoga buku ini memberikan manfaat bagi para pembacanya.



PENERBIT GRANITI
Anggota IKAPI (181/JTI/2017)
Jln. Granit Kumala 1/12, KBD, Gresik
Telp. 081357827429/081357827430
Email: penerbitgraniti@yahoo.com
Website: www.penerbitgraniti.com

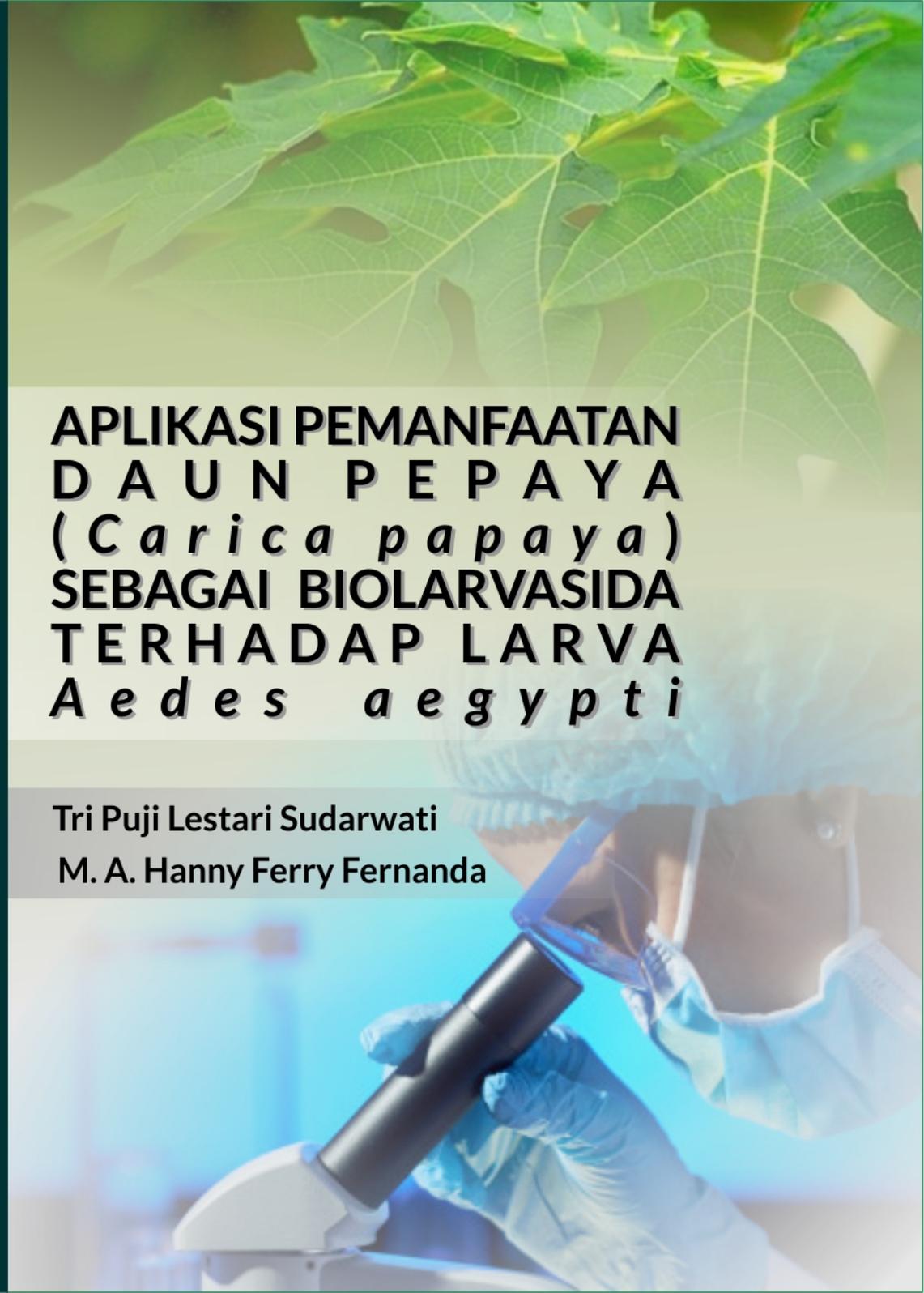


APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Tri Puji Lestari Sudarwati
M.A. Hanny Ferry Fernanda

APLIKASI PEMANFAATAN D A U N P E P A Y A (*C a r i c a p a p a y a*) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *A e d e s a e g y p t i*

Tri Puji Lestari Sudarwati
M. A. Hanny Ferry Fernanda



**APLIKASI PEMANFAATAN
DAUN PEPAYA
(*Carica papaya*)
SEBAGAI BIOLARVASIDA
TERHADAP LARVA
*Aedes aegypti***

APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Penulis

Tri Puji Lestari Sudarwati
M.A. Hanny Ferry Fernanda

Editor

Nuria Reny Hariyati

Desain Sampul & Layout

Febry San

Penerbit

Graniti

Anggota IKAPI (181/JTI/2017)
Perum. Kota Baru Driyorejo, Jln. Granit Kumala 1/12, Gresik 61177
website:www.penerbitgraniti.com
fb: Penerbit Graniti
ig:@penerbit_graniti
email: penerbitgraniti@yahoo.com
telp.081357827429/081357827430

Hak cipta dilindungi undang-undang
All rights reserved

Cetakan pertama, November 2019

ISBN: 978-602-5811-53-1

Hak cipta dilindungi undang-undang Dilarang memperbanyak isi buku ini dengan bentuk dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

Isi buku di luar tanggung jawab penerbit dan percetakan

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya serta kesehatan sehingga penulisan buku pedoman praktikum mikrobiologi dapat terselesaikan. Ide yang terdapat dalam buku **APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*** sebagai luaran wajib dalam hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) dari RISTEDIKTI tahun 2019.

Bahan yang disajikan di dalam buku pedoman ini bersifat umum dan berguna bagi mahasiswa yang mempelajari mengenai perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dan manfaat Daun Pepaya. Isi dalam buku Refrensi ini memberikan pengetahuan mengenai manfaat daun papaya sebagai biolarvasida yang umumnya dilakukan yang mudah dipahami oleh mahasiswa.

Rasa terima kasih kami samapaikan kepada jajaran pimpinan dan rekan sejawat di Akademi Farmasi Surabaya yang telah mendukung penerbitan buku pedoman ini. Semoga buku pedoman ini memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Penulis

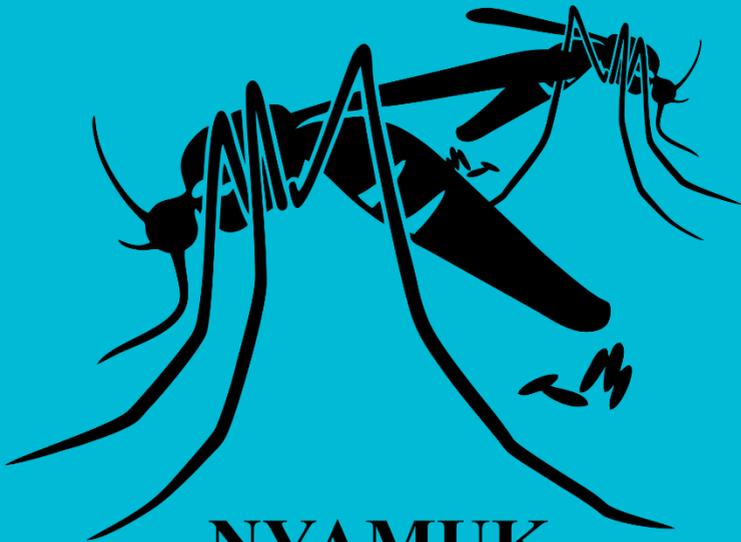
DAFTAR ISI

JUDUL	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
BAB 1. NYAMUK <i>Aedes aegypti</i>	1
1.1 Klasifikasi <i>Aedes aegypti</i>	1
1.2 Morfologi <i>Aedes aegypti</i>	2
1.3 Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	13
BAB 2. DAUN PEPAYA	15
2.1. Klasifikasi dan Morfologi Daun Pepaya	15
2.2. Morfologi Daun Pepaya.....	15
2.2.1. Kandungan Daun Pepaya.....	16
2.2.2 Pemanfaatan Daun Pepaya	17
BAB 3. ISOLASI METABOLIT SEKUNDER	19
3.1 Metode Ekstraksi	19
3.2 Definisi Ekstraksi	19
3.3 Metode Ekstraksi.....	20
3.3.1 Ekstraksi Cara Dingin	20
3.3.2 Ekstraksi Cara Panas	22
3.4 Pemilihan Metode Ekstraksi.....	24
3.5 Pemilihan Pelarut Ekstraksi	28

3.6 Ekstraksi Daun Pepaya dengan Metode Maserasi Menggunakan Metanol	28
3.7 Fraksinasi	29
3.7.1 Definisi dan Manfaat Fraksinasi	30
3.7.2 Pemilihan Pelarut untuk Fraksinasi	31
3.8 Kromatografi	33
3.8.1 Kromatografi Kolom	35
3.8.2 Tahap fraksinasi ekstrak daun pepaya dengan metode kromatografi kolom	41
BAB 4. Hasil Tentang Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>.....	43
4.1 Metode Penelitian	43
4.2 Data Penelitian.....	45
4.2.1 Uji Larvasida Fraksi Daun Pepaya Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>	45
4.3 Pembahasan	50
4.4 Kesimpulan	55
DAFTAR PUSTAKA	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar. 1 Telur.....	3
Gambar. 2 Telur yang telah menetas pengamatan dibawah mikroskop (100X).	3
Gambar. 3 Telur larva yang belum menetas pengamatan dibawah mikroskop (100X).	3
Gambar. 4 Larva Instar 1 (400X).	6
Gambar. 5 Larva Instar 3 (400X).	7
Gambar. 6 Larva Instar 2 (400X).	7
Gambar. 7 Kulit mati yang dilepaskan larva pada proses ecdysis (pergantian kulit) (400X).	8
Gambar. 8 Larva Instar 4 (400X).	8
Gambar. 9 Proses Bernafas Pada Fase Larva.	9
Gambar. 10 Pupa (400X).	10
Gambar. 11 Perbandingan Kulit mati pada larva dan pupa (400X)	11
Gambar. 12 Aktivitas pupa di dalam air.	11
Gambar. 13 Nyamuk Yang Telah Menetas Dari Fase Pupa	12
Gambar. 14 Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	14
Gambar. 15 Daun Pepaya.	16
Gambar. 16 Proses Maserasi Daun Pepaya dengan Pelarut Metanol	26
Gambar. 17. Alur Proses Ekstraksi.....	27
Gambar. 18. Kromatografi Kolom.....	32
Gambar. 19. Skema Kromatografi Lapis Tipis.....	34
Gambar. 20. Skema Kromatografi Kolom	40
Gambar. 21. Lempeng Penampang KLT	41
Gambar. 22. Kromatografi Lapis Tipis	42
Gambar. 23. Hasil Fraksinasi	46
Gambar. 24. Totolan dari 10 Fraksi Dibawah Sinar UV Dengan Panjang Gelombang 366 nm	47



NYAMUK
Aedes aegypti

BAB I

BAB 1. NYAMUK *Aedes aegypti*

1.1 Klasifikasi *Aedes aegypti*

Aedes aegypti merupakan serangga yang termasuk dalam filum arthropoda berasal dari bahasa Yunani yakni *arthro* yang berarti ruas serta *poda* yang berarti kaki, sehingga arthropoda merupakan kelompok hewan yang mempunyai ciri utama kaki beruas-ruas (Borror dkk, 1996; Hadi, 2009). Dengan klasifikasi *Aedes aegypti* menurut ITIS (Integrated Taxonomic Information System).

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Protostomia
Superphylum	: Ecdysozoa
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Hexapoda
Class	: Insecta
Subclass	: Pterygota
Infraclass	: Neoptera
Superorder	: Holometabola
Order	: Diptera
Suborder	: Nematocera
Infraorder	: Culicomorpha
Family	: Culicidae
Subfamily	: Culicinae
Tribe	: Culicini
Genus	: <i>Aedes</i>
Species	: <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1792)

1.2 Morfologi *Aedes aegypti*

Aedes aegypti mengalami metamorphosis sempurna yakni dari telur, larva pupa dan menetas menjadi nyamuk. Berikut adalah siklus hidup yang dialami oleh *Aedes aegypti*.

A. Telur *Aedes aegypti*

Telur nyamuk *Aedes aegypti* di alam diletakkan satu persatu pada dinding wadah air. Telur mempunyai ciri-ciri berwarna hitam, bentuknya oval. Menurut Christophers (1960), telur nyamuk *Aedes aegypti* jika dilihat dengan mata telanjang ukurannya kecil, sangat hitam. Sedangkan jika dilihat dibawah mikroskop, bentuknya kelihatan seperti torpedo dengan bagian ujung anterior agak gemuk dan runcing pada ujung yang lain, serta mempunyai permukaan yang kasar. Secara morfologi telur *Aedes aegypti* hampir sama seperti telur serangga yang lain. Namun setelah fertilisasi sekeliling telur ditutupi oleh *nurse cell* yang disebut dengan chorion. Berasal dari folikel epitelium yang terdiri atas lapisan luar yang disebut dengan axochorion dan lapisan dalam yang disebut dengan endochorion. Ciri exochorion yaitu tebal, kasar dan merupakan membran yang keras, dengan ketebalam 3-5 μ . Endochorion merupakan lapisan yang memberikan bentuk telur dan membuat telur menjadi kaku. Menurut Buxton dan Hopkin (1927), panjang

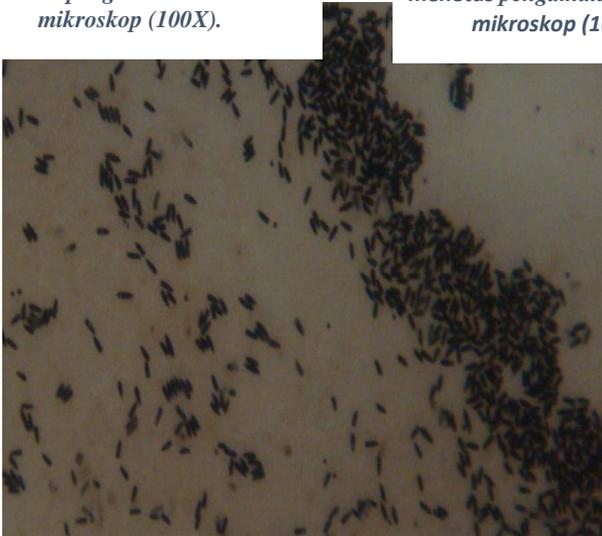
telur adalah minimal 0,624 cm; maximal 0,704 cm dan rata-rata 0,664 cm.



Gambar. 3 Telur larva yang belum menetas pengamatan dibawah mikroskop (100X).



Gambar. 2 Telur yang telah menetas pengamatan dibawah mikroskop (100X).



Gambar. 1 Telur.

B. Larva *Aedes aegypti*

Larva *Aedes aegypti* berbentuk lonjong, transparan dan sepanjang tubuhnya ditumbuhi oleh rambut-rambut. Menurut Christopher (1960), larva *Aedes aegypti* jika dilihat dengan mata telanjang bentuknya agak silinder dan bentuknya agak memanjang. Larva nyamuk bersifat akuatik dan mempunyai sifon atau tabung pernafasan dan sepasang spirakel pada ujung abdomen (Sigit, dkk. 2006). Pada fase larva mengalami proses ekdisis, dimana dipengaruhi oleh hormone pertumbuhan dan ketersediaan makanan. Hal tersebut disebabkan karena pada fase larva merupakan fase makan sebelum menjadi pupa yang merupakan fase istirahat sebelum menetas menjadi nyamuk. Selain proses makan pada fase larva juga aktif bernafas dengan menggunakan paru-paru sehingga larva melakukan aktivitas mengapung diatas permukaan air.

Pada larva instar pertama ditandai dengan keluarnya bagian dorsal kepala pada saat telur mulai rusak, kemudian larva yang keluar mempunyai ciri karakter luar yaitu bertambahnya rambut, bertambahnya duri, bertambah kompleks pada bagian sifon respiratori, segmen anal dan bagian mulut, dengan kepala yang agak sempit dan bentuknya agak triangular. Larva instar II dan III ditandai dengan pergantian kulit lama akan lepas dan mengapung di permukaan air. Pada larva instar IV sangat berbeda dari instar yang lain yaitu pada bagian kepala terlihat sangat gelap secara

keseluruhan, serta mulai terbentuk calon pupal respiratory. Menurut Christopher (1960) secara fisiologi proses pelepasan kulit atau pergantian dengan kulit muda terjadi pada stadium larva yang disebut ekdisis. Ekdisis dipengaruhi oleh hormon ekdison. Dimana lapisan tebal endocuticular pada kulit tua dilepaskan diganti dengan lapisan tipis kulit baru. Hormon tidak memicu pupasi secara langsung, tetapi beraksi pada sepasang kelenjar yang terdapat di dalam dada yang disebut kelenjar protorax. Aktivitas hormon otak ini menghasilkan hormon protorasikotropik atau disebut juga (PTTH). Bila otak dirangsang oleh PTTH akan mengeluarkan hormon kedua yaitu hormon ekdison. Hormon ekdison ini berperan dalam pergantian kulit dan pembentukan pupa. Selain hormon ekdison juga terdapat juvenil hormon yang dihasilkan oleh corpora allata, hormon ini berperan dalam membantu perkembangan larva. Produksi juvenil hormon tinggi menyebabkan tidak terjadi pergantian kulit (ekdisis) pada larva, namun jika produksi ekdison tinggi maka ekdisis akan terjadi pada larva (Kimball, 1991). Terjadinya ekdisis pada larva nyamuk disebabkan oleh perkembangan larva yang semakin besar, sehingga membutuhkan kulit baru untuk melindungi tubuhnya. Proses ekdisis yang terjadi pada larva nyamuk dipengaruhi oleh enzim yang disintesis oleh hormon. Enzim ini yang membantu mencerna dan menghancurkan lapisan tebal endokutula bagian dalam

dari kutikula tua, sehingga muncul kulit baru. Pelepas kulit tua dibantu oleh aktivitas otot secara perlahan (Christophers, 1960).



Gambar. 4 Larva Instar 1 (400X).



Gambar. 6 Larva Instar 2 (400X).



Gambar. 5 Larva Instar 3 (400X)



Gambar. 8 Larva Instar 4 (400X).



Gambar. 7 Kulit mati yang dilepaskan larva pada proses ecdysis (pergantian kulit) (400X).



Gambar. 9 Proses Bernafas Pada Fase Larva.

C. Pupa *Aedes aegypti*

Pupa *Aedes aegypti* berbentuk seperti koma dengan kepala yang besar dan berwarna coklat. Menurut Sigit dkk (2006) berbentuk oval dengan ujung abdomen seperti ekor, serta mempunyai sepasang tabung udara. Tabung pernafasan pendek, dengan bagian ujung yang tidak meluas, serta ruas abdomen 2-7 tidak memiliki spina. Pada fase pupa tidak terjadi penambahan ukuran yaitu 4 cm dan terjadi selama 2 hari. Hal ini dikarenakan pada fase pupa tidak terjadi aktivitas makan, sehingga tidak terjadi penambahan ukuran. Pada fase pupa ini sangat sensitif dengan pergerakan air dan sangat aktif jungkir balik di dalam air.



Gambar. 10 Pupa (400X).



Gambar. 11 Perbandingan Kulit mati pada larva dan pupa (400X)



Gambar. 12 Aktivitas pupa di dalam air.

D. Nyamuk *Aedes aegypti*

Tubuh serangga dibagi menjadi 3 bagian yakni kepala (caput), dada (toraks) dan perut (abdomen).

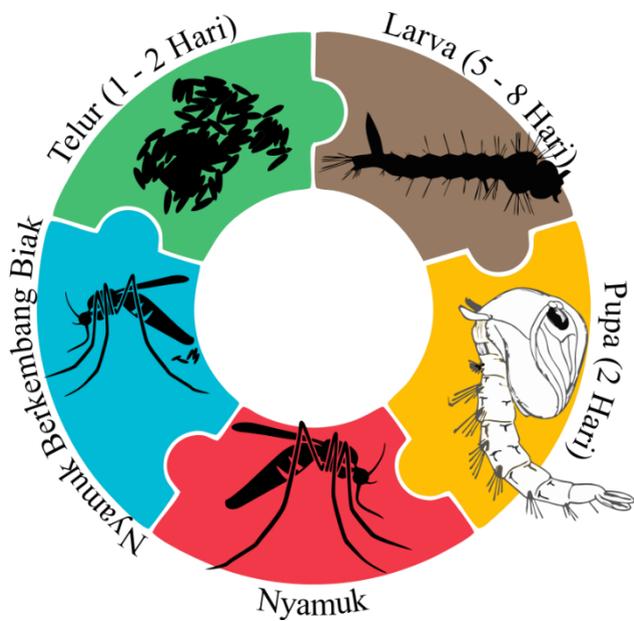
Caput pada nyamuk *Aedes aegypti*



Gambar. 13 Nyamuk Yang Telah Menetas Dari Fase Pupa

1.3 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti*

Aedes aegypti merupakan kelompok serangga yang mengalami metamorfosis. Metamorfosis merupakan proses perkembangan biologi yang melibatkan perubahan bentuk maupun perubahan fungsi organ-organ tubuh makhluk hidup. Metamorphosis serangga dibedakan menjadi empat yakni: tanpa metamorphosis (Ametabola), metamorphosis bertahap (paurometabola), metamorphosis tidak sempurna (hemimetabola) dan metamorphosis sempurna (holometabola). Dimana *Aedes aegypti* mengalami metamorphosis sempurna yang dapat disebut dengan holometabola. Holometabola mengalami 4 fase lengkap yakni sejak telur menetas kemudian berkembang menjadi larva kemudian berkembang menjadi pupa hingga menetas menjadi nyamuk, kemudian berkembang menjadi nyamuk dewasa, kemudian breeding dan kembali bertelur. Lamanya siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* antara 8-12 hari tergantung dari banyak faktor yakni pH, suhu, ketersediaan makanan serta kondisi lingkungan yang lain.



Gambar. 14 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti*.



DAUN PEPAYA

BAB II

BAB 2. DAUN PEPAYA

2.1. Klasifikasi dan Morfologi Daun Pepaya

Klasifikasi daun pepaya menurut ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Rosanae
Order	: Brassicales
Family	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i> L
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L

2.2. Morfologi Daun Pepaya

Daun pepaya merupakan daun tunggal yang berukuran besar, bercanggap menjari (palmatifidus) serta bergerigi dan mempunyai bagian-bagian tangkai daun (petioles) juga helaian daun (lamina). Ujung daun pepaya meruncing, tangkai daunnya panjang dan berongga. Permukaan daun pepaya licin (laevis), sedikit mengkilat (nitidus), daging seperti perkamen (perkamentus) dengan susunan tulang daun menjari

(palminervis) dimana letak daun yang termuda terbentuk dibagian tengah tanaman.



Gambar. 15 Daun Pepaya.

2.2.1. Kandungan Daun Pepaya

Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki kandungan metabolit sekunder yang bermacam-macam mulai dari bagian daun, buah, biji, dan getah. Adapun kandungan yang terdapat di dalam tanaman pepaya dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 1. Bagian Pepaya Dan Zat Yang Terkandung

Bagian Tanaman	Zat yang Terkandung
Daun	Enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo karpaina, glikosid, karposid, dan saponin
Buah	Beta karoten, pectin, d-galaktosa, larabinose, papain, papayotimin, vitokinose
Biji	Glucoside, caricin, karpain
Getah	Papain, kemokapain, lisosim, lipase, glutamin

2.2.2 Pemanfaatan Daun Pepaya

Diindonesia umumnya daun pepaya digunakan sebagai bahan makanan, dalam hal pengobatan daun pepaya dapat bermanfaat sebagai pelancar ASI. Selain hal tersebut daun pepaya banyak diteliti dimana dapat membunuh sel kanker yakni kanker payudara, serviks, hati, paru-paru dan pancreas. Selain itu daun pepaya juga menghambat perkembangan protozoa yang berkembang didalam tubuh manusia akibat dari pembawa oleh vector penyakit. Selain hal tersebut rebusan daun pepaya juga dapat menyembuhkan berbagai gangguan kewanitaan , misalnya keputihan, demam akibat nifas, ketidakteraturan haid.



ISOLASI METABOLIT SEKUNDER

BAB III

BAB 3. ISOLASI METABOLIT SEKUNDER

3.1 Metode Ekstraksi

Salah satu cara untuk mendapatkan manfaat dari kandungan bahan alam adalah dengan mengambil sari atau memisahkan kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman tersebut. Cara yang paling umum digunakan untuk mendapatkan sari atau kandungan senyawa aktif pada suatu tanaman biasanya dilakukan dengan teknik ekstraksi. Teknik ekstraksi senyawa aktif bahan alam yang biasanya digunakan antara lain maserasi, perkolasi, infudasi, dan sokhletasi. Selanjutnya ekstrak yang dihasilkan dapat dipisahkan lagi menjadi fraksi-fraksinya dengan menggunakan metode kromatografi. Metode kromatografi yang biasa digunakan adalah Kromatografi lapis tipis, Kromatografi kolom vakum, Kromatografi kolom gravitasi dan kromatotron.

3.2 Definisi Ekstraksi

Sebelum membahas lebih lanjut cara melakukan ekstraksi yang optimal, perlu diketahui terlebih dahulu definisi ekstraksi secara umum. Ekstraksi adalah pemisahan zat target dan zat yang tidak berguna dimana teknik pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut atau lebih yang saling bercampur. Pada umumnya, zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau sedikit larut dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain (Harbone, 1987).

Definisi lain tentang ekstraksi yaitu suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai dalam standar prosedur ekstraksi (ICS-UNIDO, 2008; Ditjen POM, 2000). Proses ekstraksi akan berhenti ketika kesetimbangan telah tercapai antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam simplisia. Setelah proses ekstraksi selesai, residu padat dan pelarut (marc) dipisahkan dengan cara penyaringan (ICS-UNIDO, 2008; Seidel, 2012).

3.3 Metode Ekstraksi

Secara umum metode ekstraksi dibedakan berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan. Pemanasan ini sangat berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi juga bergantung pada senyawa target yang diharapkan setelah proses ekstraksi. Berikut ini jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan.

3.3.1 Ekstraksi Cara Dingin

Metoda ini artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa yang dimaksud rusak karena pemanasan. Jenis ekstraksi dingin adalah maserasi dan perkolasi. Berikut penjelasan singkat tentang metode ekstraksi cara dingin.

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara 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 dengan 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.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan jalan melewatkan pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator. Perkolasi bertujuan supaya zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

3.3.2 Ekstraksi Cara Panas

Metoda ini pastinya melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin. Metodanya adalah refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet dan infusa. Berikut penjelasan singkat tentang metode ekstraksi cara panas.

a. Reflux

Salah satu metode sintesis senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam sintesis tersebut menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N₂ diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif.

b. Soxhlet

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara kontinyu akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi tersebut. Pelarut yang telah membawa senyawa kimia pada labu distilasi yang diuapkan dengan rotary evaporator sehingga pelarut tersebut dapat diangkat lagi bila suatu campuran organik berbentuk cair atau padat ditemui pada suatu zat padat, maka dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut yang diinginkan.

c. Infusa

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada waktu proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air adalah 1 : 10, artinya jika berat bahan 100 gr maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml. Cara yang biasa dilakukan adalah serbuk bahan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-sekali

diaduk. Saring selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan. Apabila bahan mengandung minyak atsiri, penyaringan dilakukan setelah dingin.

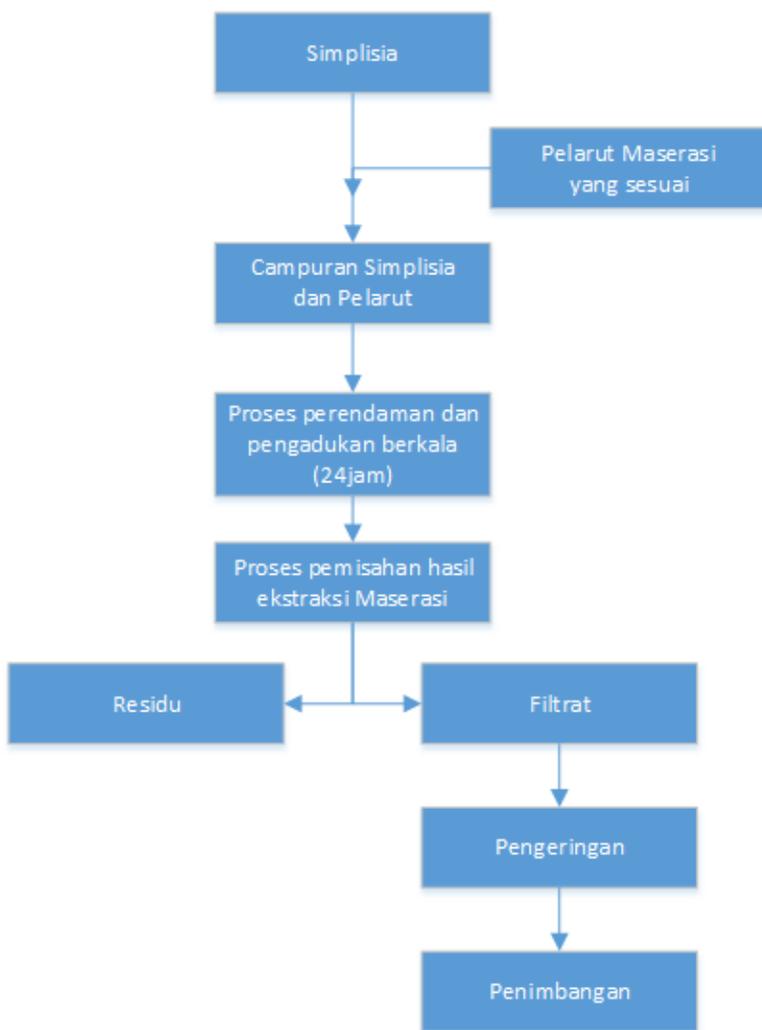
3.4 Pemilihan Metode Ekstraksi

Untuk melakukan ekstraksi daun pepaya terlebih dahulu dipilih metode ekstraksi yang sesuai. Seperti telah diketahui sebelumnya, pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada senyawa metabolit aktif yang akan diambil atau disarikan. Ekstraksi metabolit sekunder pada daun pepaya dilakukan secara maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin “Macerace” berarti mengairi dan melunakan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994). Kerugiannya adalah pengerjaanya lama dan penyarian kurang sempurna. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000; Depkes RI, 1995).



*Gambar. 16 Proses Maserasi Daun
Pepaya dengan Pelarut Metanol*



Gambar. 17. Alur Proses Ekstraksi

3.5 Pemilihan Pelarut Ekstraksi

Pada daun pepaya, senyawa metabolit aktif yang bermanfaat dan akan diambil sebagian besar memiliki sifat polar sehingga pemilihan pelarut yang paling sesuai adalah pelarut organik dengan sifat polar. Beberapa pelarut organik yang bersifat polar yang bisa digunakan dalam proses maserasi adalah methanol, etanol, dan etil asetat. Masing-masing pelarut mempunyai kelebihan yang sangat bervariasi. Penggunaan pelarut ini juga sangat mempengaruhi hasil metabolit sekunder yang didapatkan. Para peneliti juga banyak yang melakukan kombinasi tidak hanya dengan satu pelarut saja. Misalkan etanol yang dikombinasikan dengan air dengan konsentrasi berbeda. Kombinasi etanol 70% dalam air merupakan pelarut “universal” dimana sebagian besar metabolit sekunder dalam tanaman dapat diekstraksi menggunakan pelarut ini. Namun demikian, untuk mendapatkan hasil yang optimal memang perlu dilakukan studi mendalam untuk menentukan pelarut ekstraksi yang tepat.

3.6 Ekstraksi Daun Pepaya dengan Metode Maserasi Menggunakan Metanol

Serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) kering ditimbang sebanyak 150 g. Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 5x24 jam dengan menggunakan methanol dan N-heksane sebagai pelarutnya sebanyak 450 ml dalam toples yang terhindar dari sinar matahari seperti pada gambar 3.1. Dalam proses

maserasi sesekali diaduk. Setelah 5x24 jam kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur 50°C dan putaran 60 rpm untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut agar mendapatkan ekstrak kental dari daun pepaya.

Serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) kering ditimbang sebanyak 150 g. Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 5 hari dengan menggunakan n-heksan sebanyak 450 ml dan disaring, ampas kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan didapatkan serbuk 142,47 g dan dimaserasi kembali menggunakan metanol dengan perbandingan serbuk daun pepaya dengan metanol sebanyak 1:3. Dalam proses maserasi sekali-kali diaduk sampai semua merata. Setelah 5 hari kemudian di saring sehingga didapatkan ekstrak cair dari daun pepaya. Ekstrak cair kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai kental dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 5 g.

3.7 Fraksinasi

Hasil ekstrak daun papaya yang telah didapatkan dari proses ekstraksi sejatinya telah dapat digunakan untuk pengujian efektivitas terhadap larvasaida. Namun, untuk mengetahui kandungan aktif dalam ekstrak daun papaya perlu dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak tersebut. Fraksinasi hasil ekstrak daun papaya bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan potensial terhadap larva *Aedes aegypti* dengan lebih spesifik lagi. Dari hasil

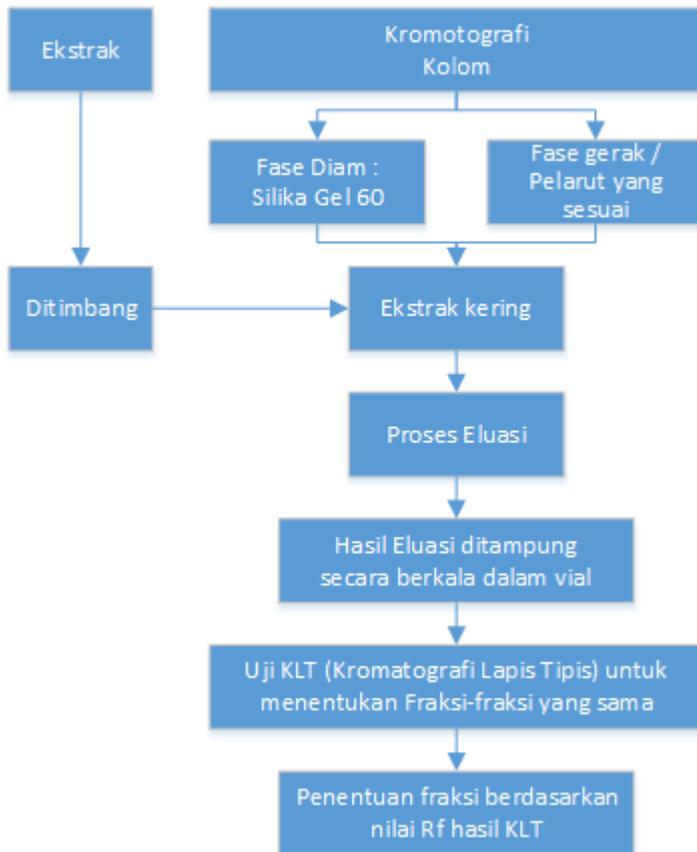
fraksinasi ini diharapkan akan ditemukan fraksi yang paling efektif untuk digunakan sebagai biolarvasida bahkan melebihi efektifitas dari ekstraknya. Fraksinasi secara umum dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Pada bab ini akan dijelaskan definisi dan manfaat fraksinasi ekstrak, pemilihan pelarut untuk fraksinasi serta tahap fraksinasi serta hasil fraksinasi dari ekstrak daun papaya.

3.7.1 Definisi dan Manfaat Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawasenyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012). Metode yang umum digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom (Mutiasari, 2012).

3.7.2 Pemilihan Pelarut untuk Fraksinasi

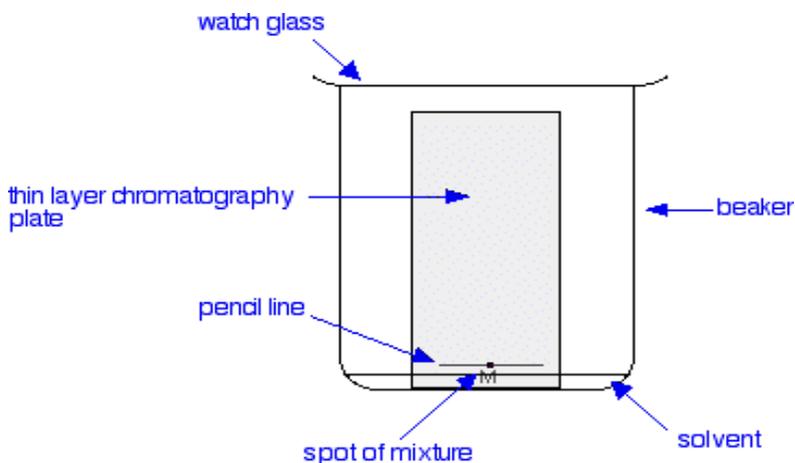
Ekstrak metanol yang akan dipisahkan terlebih dahulu dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mencari eluen yang sesuai sebagai fasa gerak pada pemisahan kromatografi kolom. Selanjutnya ekstrak metanol sebanyak 1 gram di pisahkan dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel GF60 dan dielusi berturut-turut menggunakan pelarut organik seperti n-heksan, methanol, etil asetat dengan perbandingan tertentu. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari tahapan kromatografi kolom dilakukan proses kromatografi lapis tipis kembali untuk mengabungkan fraksi-fraksi yang sama harga Rf-nya. Pola noda akan terbentuk pada setiap fraksi. Jika isolat tetap menunjukkan pola noda tunggal, maka isolat telah murni.



Gambar. 18. Kromatografi Kolom

3.8 Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan berdasarkan perbedaan perpindahan dari komponen-komponen senyawa diantara dua fase yaitu fase diam (dapat berupa zat cair atau zat padat) dan fase gerak (dapat berupa gas atau zat cair) (Depkes RI, 1995). Sedangkan pada kromatografi lapis tipis, fase geraknya berupa lempeng tipis. Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fisikokimia. Lapisan pemisah terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam) yang pada umumnya dilapisi dengan silika gel. , ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan baik berupa bercak ataupun pita. Setelah plat atau lapisan dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985).



Gambar. 19. Skema Kromatografi Lapis Tipis

Secara umum KLT digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada suatu ekstrak tanaman. Namun pada tahap awal fraksinasi, metode KLT ini digunakan untuk mencari eluen yang terbaik untuk memisahkan ekstrak daun pepaya menjadi fraksi-fraksinya pada kromatografi kolom. Setelah dilakukan pemisahan fraksi ekstrak, tiap fraksi yang didapat kemudian dilakukan lagi pemisahan dengan menggunakan KLT untuk menentukan fraksi yang memiliki pola noda dan nilai Rf yang sama. Nilai Rf ditentukan menggunakan rumus berikut ini

$$R_f \text{ (Retardation Factor)} = \frac{\text{Jarak Tempuh Noda}}{\text{Jarak Tempuh Eluen}}$$

3.8.1 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom termasuk kromatografi cairan, adalah metoda pemisahan yang cukup baik untuk sampel lebih dari 1 gram. Pada kromatografi ini sampel sebagai lapisan terpisah diletakkan diatas fase diam. Biasanya sampel dihomogenkan dengan fase diam sehingga merupakan serbuk kering, diatas lapisan ini dapat diletakkan pasir untuk menjaga tidak terjadinya kerusakan waktu ditambahkan fase gerak diatas lapisan sampel. Fase diam dan sampel ini berada di dalam kolom yang biasanya dibuat dari gelas, logam ataupun plastik. Selama elusi fase gerak dialirkan dari atas, mengalir karena gaya gravitasi atau ditekan dan juga disedot dari arah bawa. Komponen sampel akan terpisah selama bergerak dibawa fase gerak didalam kolom (fase diam). Komponen yang paling tidak tertahan oleh fase diam akan keluar lebih dahulu dan diikuti oleh komponen lain. Semuanya ditampung sebagai fraksi, volume tiap fraksi tergantung besarnya sampel (kolom).

A. Kolom kromatografi

Kolom biasanya berbentuk seperti buret untuk titrasi, ukurannya beragam. Perbandingan panjang kolom sekurang-kurangnya 10 kalinya diameternya, perbandingan ini tergantung mudah tidaknya komponen dipisahkan. Perbandingan berat sampel dan fase gerak (1 : 30) biasanya cukup memadai untuk pemisahan yang

mudah, perbandingan dapat ditingkatkan hingga (1:50) untuk komponen yang susah dipisahkan.

B. Fase diam

Ukuran partikel fase diam biasanya lebih besar dari ukuran partikel fase dian untuk KLT, ukuran yang digunakan antara 63-250 μm . Ukuran partikel lebih kecil dari 63 μm akan mengalir lebih lambat, sehingga perlu ditekan atau dihubungkan dengan pipa hisap. Silika gel (SiO_2) adalah fase diam yang serba guna, banyak digunakan. Pada pembuatannya silika gel perlu diaktifkan panaskan pada 150-160°C selama 3-4 jam. Fase diam lain yang dapat digunakan adalah alumina.

C. Fase gerak (pelarut = solven = eluen)

Fase gerak dalam hal ini adalah pelarut yang akan digunakan dalam pemisahan dengan kromatografi kolom. Pemilihan fase gerak sangat menentukan berhasil tidaknya pemisahan. Untuk menentukan fase gerak yang akan digunakan, dapat dilakukan beberapa pendekatan diantaranya penelusuran literature/pustaka dan mencoba dengan KLT terlebih dahulu. Cara kedua ini lebih lazim dipilih karena dapat secara tepat memprediksi pelarut kromatografi kolom yang akan digunakan. Cara ini dikerjakan dengan memilih fase diam KLT sejenis dengan fase diam kolom yang akan digunakan. Biasanya dicoba dikembangkan dengan fase gerak non polar kemudian diikuti dengan fase gerak yang lebih polar.

D. Membuat kolom (*packing*)

Pengemasan kolom dapat dilakukan dengan cara basah atau cara kering. Cara basah lebih mudah untuk memperoleh packing yang memberikan pemisahan yang baik. Sedangkan cara kering umumnya dilakukan untuk alumina.

➤ Cara basah

Kedalam ujung kolom kromatografi (tempat keluarnya fase diam) diatas keran diletakkan gelas wool, tidak perlu ditekan kuat. Diatasnya ditaburkan pasir sehingga membentuk lapisan tebal + 1 cm. Selanjutnya dimasukkan petroleum eter sambil mencoba kecepatan menetes fase gerak dengan memutar keran. Di dalam beker gelas dibuat bubur fase diam dengan petroleum eter. Dengan bantuan batang pengaduk bubur dimasukkan kedalam kolom berisi petroleum eter. Sambil diketuk-ketuk butir-butir fase diam akan turun dan tersusun rapi didalam kolom. Bila kolom penuh dengan petroleum eter keran dibuka untuk menurunkan permukaannya dan petroleum eter yang keluar dapat digunakan lagi untuk membuat bubur fase diam. Packing dihentikan sampai panjang kolom yang dikehendaki. Selapis pasir diletakkan pada packing kolom untuk melindungi kolom. Kolom dijaga untuk tidak kering, maka diatas lapisan pasir harus selalu ada selapis fase gerak. Pada proses packing ini dinding luar kolom gelas disemprot dengan aseton. Penyemprotan dimaksudkan untuk mendinginkan kolom

sehingga menghambat terbentuknya gelembung udara. Adapun untuk kolom yang diameternya kecil fase diam kering dapat ditaburkan sedikit demi sedikit kedalam kolom yang berisi petroleum eter. Kolom ini digunakan setelah disimpan semalam.

➤ Cara kering

Selapis pasir diletakkan didasar kolom, kemudian fase gerak dimasukkan lapis demi lapis sampai ditekan dengan karet atau alat penekan lain. Selain ditekan dapat juga dibantu dengan dihisap, sehingga dihasilkan packing fase diam yang mampat. Diatas fase diam diletakkan kertas saring dan diatasnya lagi sdapis pasir. Pada posisi keran terbuka fase gerak dituangkan dan dibiarkan mengalir keluar. Packing kolom disimpan dengan mempertahankan selapis fase gerak berada diatas lapisan pasir.

E. Penyiapan Sampel

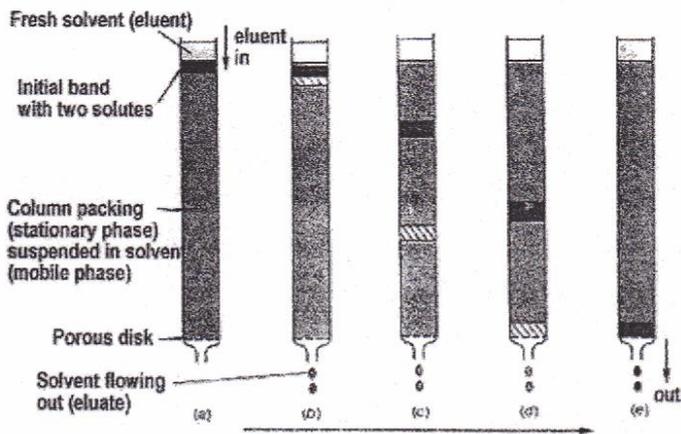
Sampel ditimbang kemudian dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian dituangkan hati-hati di atas packing kolom. Fase gerak dikeluarkan tetes demi tetes, diatur kecepatan menetesnya (tergantung besar-kecilnya kolom) dan dijaga kolom tetap terendam, untuk itu ditambah fase gerak perlahan-lahan dan dijaga tidak merusak packing kolom. Fase gerak yang keluar ditampung sebagai fraksi. Volume fraksi tergantung berat sampel dan pemisahan yang nampak pada kolom saat

proses awal elusi ini. Makin kecil volume fraksi, akan diperoleh pemisahan yang lebih baik, namun akan dikumpulkan banyak fraksi. Untuk 10 gram sampel biasanya dikumpulkan fraksi dengan volume 150 ml. Cara meletakkan sampel pada kolom yang lebih baik adalah dengan mencampur dengan fase diam. Satu bagian sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut yang digunakan untuk pembuatan ekstrak. Larutan ekstrak ini kemudian dicampur dengan 2,0- 3.0 bagian fase diam, dengan hati-hati campuran ini dikeringkan didalam rotary evaporator hingga diperoleh serbuk ekstrak kering. Serbuk ini ditaburkan diatas packing kolom dan ditutup dengan selapis pasir. Selanjutnya sampel siap dielusi.

F. Elusi (pengembangan)

Fase Elusi (pengembangan) merupakan proses pemisahan ekstrak menjadi fraksi-fraksinya oleh pengaruh Fase gerak (cairan =pelarut pengembang). Fase gerak dimasukkan kedalam kolom dengan cara dituangkan sedikit demi sedikit atau dialirkan dari bejana yang diletakkan diatas kolom sehingga fase gerak mengalir dengan sendirinya. Cara yang praktis adalah dengan memasukkan kedalam corong pisah, ujung corong pisah dimasukkan kedalam kolom dan ujung lain tertutup, sedangkan keran terbuka. Fase gerak akan keluar dengan sendirinya sesuai dengan keluarnya fase gerak dari kolom.

Ada dua jenis cara elusi, yang pertama adalah elusi isokratik yaitu selama proses elusi menggunakan fase gerak dengan polaritas tetap. Kedua adalah elusi gradien (bertahap) yaitu selama proses elusi menggunakan fase gerak berubah-ubah polaritasnya. Untuk membuat polaritas berubah-ubah maka komposisi fase gerak berubah. Pada umumnya dimulai fase gerak non polar kemudian berubah kepelarut yang polar. Perubahan ini dapat diprogramkan sesuai dengan pemisahan yang diinginkan.

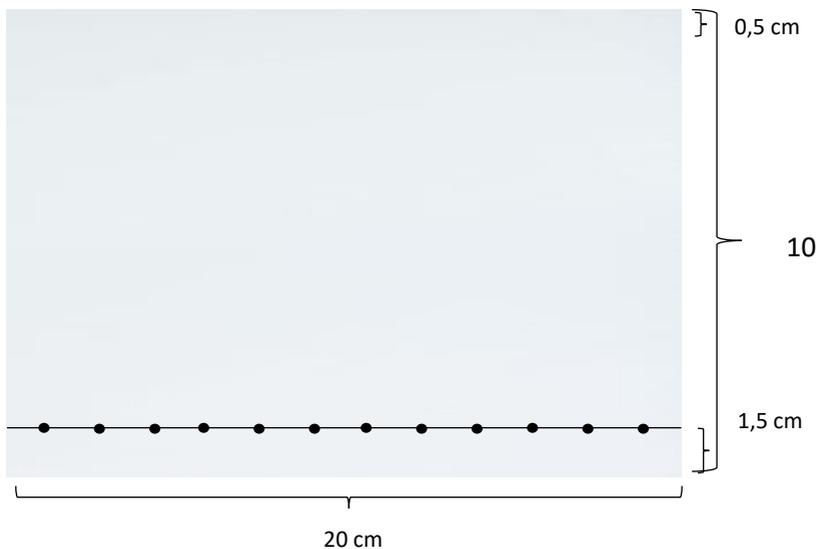


Gambar. 20. Skema Kromatografi Kolom

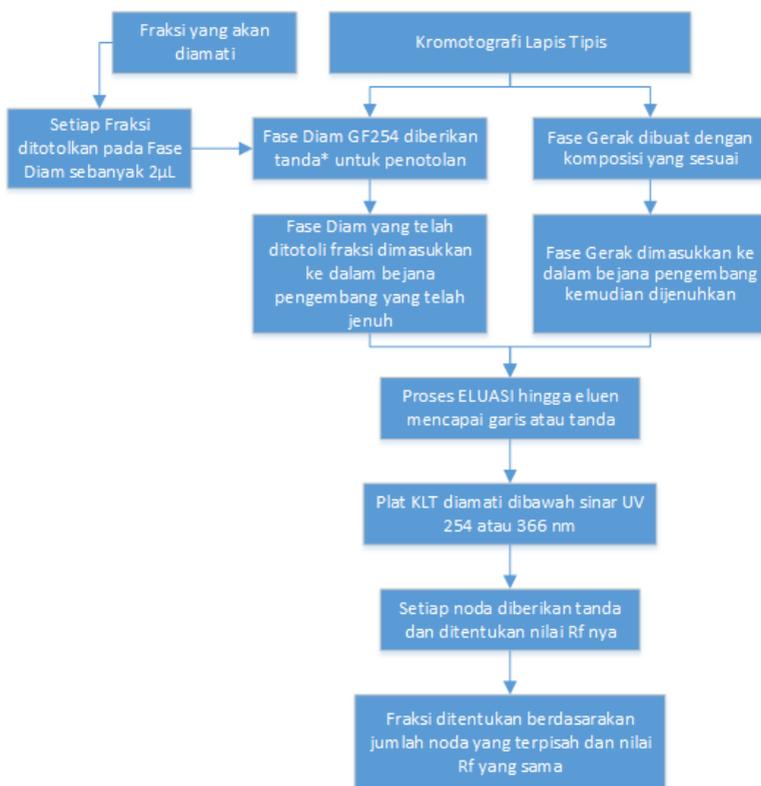
Elusi dihentikan jika sudah tidak ada lagi sampel yang dapat dibawa keluar lagi oleh fase gerak, bila digunakan elusi gradien sudah sampai pada fase gerak yang paling polar.

3.8.2 Tahap fraksinasi ekstrak daun pepaya dengan metode kromatografi kolom

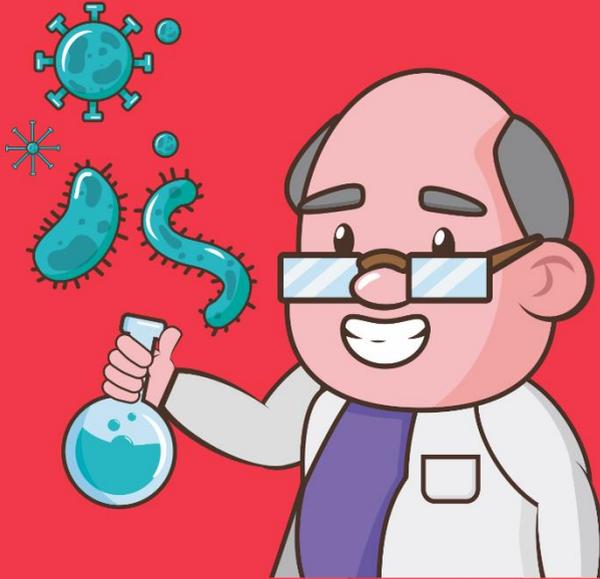
Ekstrak kental yang diperoleh difraksinasi sebanyak 1 gram dengan menggunakan kromatografi kolom dengan adsorben silika gel G 60 F242 sebagai fase diam dan eluen n-heksan sebagai fasa gerak. Dengan perbandingan antara n-heksan dengan etil asetat yang terus ditingkatkan kepolarannya. Fraksi-fraksi yang dihasilkan secara KLT dengan eluen etilasetat/n-heksan (2 : 8).



Gambar. 21. Lempeng Penampang KLT



Gambar. 22. Kromatografi Lapis Tipis



PEMANFAATAN DAUN PEPAYA

BAB IV

BAB 4. Hasil Tentang Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

4.1 Metode Penelitian

a. Prosedur Ekstraksi *Carica papaya*

Sebanyak 150gram serbuk daun *Carica papaya* dimasukkan ke dalam toples kaca 450mL n-heksan, kemudian ditutup kedap, didiamkan selama 3 hari, diaduk pelan-pelan hingga homogen tiap harinya. Setelah 3 hari, hasil rendaman diperas menggunakan kertas saring Whatman no. 42. Ampas hasil maserasi dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah kering, direndam Ampasnya ditambahkan lagi methanol sama seperti pada perlakuan no. 1. Saring lagi seperti pada perlakuan no. 2, filtrat yang telah didapatkan kemudian disimpan dalam botol. Filtrat tersebut dimasukkan dalam labu Evaporator yang telah ditimbang beratnya. Dengan rotasi 80rpm Selanjutnya dievaporasi pada suhu maksimum 60°C sampai diperoleh ekstrak metanol yang pekat selama kurang lebih 2 jam. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam Desikator sebelum digunakan untuk pengujian identifikasi fraksi dengan metode kromatografi kolom.

b. Identifikasi fraksi

Menyiapkan kolom untuk kromatografi dengan eluennya. Memasukkan kapas didasar tabung kolom

kromatografi untuk menyaring. Membuat larutan eluen N-heksan : etil asetat dengan perbandingan 8:2. Menimbang silika gel kolom sebanyak 7 gram, larutkan dalam eluen seperti no.3. Masukkan pada gel yang sudah dilarutkan dengan eluen ke dalam kolom kromatografi pada no. 2 tambahkan eluen hingga setengah kolom kromatografi, didiamkan selama 24 jam. Larutkan ekstrak sebanyak 1gram dengan larutan eluen seperti pada no. 3, memasukan kedalam no. 5, didiamkan sampai ekstrak turun ke dasar kolom kromatografi. Tampung fraksi kromatografi kolom dengan vial sambil ditambahkan terus eluen untuk menjaga silika gel tidak pecah sampai kolom dalam kromatografi bening. Fraksi yang telah ditampung dilanjutkan dengan uji KLT. Fraksi yang sama dikumpulkan dalam satu wadah. Fraksi yang telah didapat diuapkan untuk menghilangkan sisa pelarut N-Heksan. Fraksi selanjutnya dilakukan uji toksisitas terhadap larvasida *Aedes aegypti*

c. Prosedur Pengujian Larvasida

1. Penyiapan Larva *Aedes aegypti*

Larva nyamuk disiapkan dengan cara menetas telur larva *Aedes aegypti* selama dua hari sebelum dilakukan pengujian. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur nyamuk tersebut ke dalam gelas piala 1000 mL yang berisi akuadest. setelah menetas memilah larva dalam

wadah toples yang berisi air gula dan diamati sampai mencapai instar III yang ditandai dengan molting sebanyak 2 kali..

2. Penyiapan Sampel dan Pembuatan Konsentrasi

Fraksi yang telah diperoleh dilakukan uji toksisitas terhadap larva *Aedes aegypti*. Masing-masing fraksi dibuat konsentrasi larutan uji 0,625 mL, 1,25 mL, 2,5 mL, 5,0 mL, dan 10,0mL pelarut air. Larutan uji dibuat dengan memipet ekstrak daun pepaya masing-masing sebanyak 0,625 mL, 1,25 mL, 2,5 mL, 5,0 mL, dan 10,0mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL lalu ditambahkan aquades ad 10,0mL.

3. Uji Toksisitas

Larutan uji masing-masing dimasukkan ke dalam toples yang berisi 90 mL air dan ditambahkan 10 ekor larva nyamuk instar III. Setiap konsentrasi dilakukan empat kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan I dilakukan selama 12 jam dengan selang waktu 1 jam. Analisis data perhitungan LC50 dilakukan dengan cara data % kematian ditransformasikan ke dalam log konsentrasi.

4.2 Data Penelitian

4.2.1 Uji Larvasida Fraksi Daun Pepaya Terhadap Larva *Aedes aegypti*

1. Hasil Ekstraksi Daun Pepaya (*Carica papaya*)

Daun pepaya yang telah ditimbang sebanyak 150 kg, kemudian diekstraksi dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut n-Heksan. Adapun hasil ekstraksi yang telah dilakukan dengan menggunakan pelarut N-Heksan dapat dilihat dibawah ini (tabel 1):

Tabel 2. Hasil Maserasi Ekstrak Daun Pepaya
(*Carica papaya*)

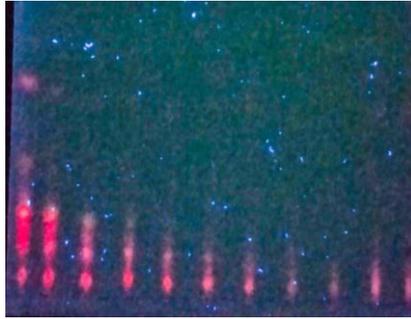
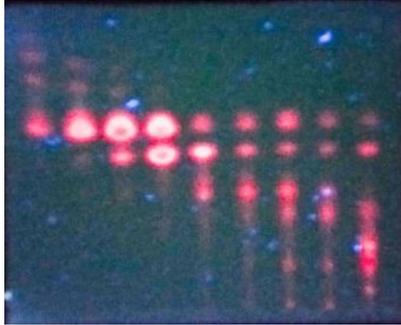
Sampel	Pelarut	Berat Ekstrak
Daun Pepaya	Methanol	5,12

2. Pemisahan Fraksi Dengan Metode Kromatografi Cair

Adapun hasil fraksinasi dengan metode kromatografi cair menggunakan campuran eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 8: 2 selama 6 jam peroleh 10 gabungan fraksi yang sama melalui penampakan bercak lampu UV 366 nm



Gambar. 23. Hasil Fraksinasi



Gambar. 24. Totolan dari 10 Fraksi Dibawah Sinar UV Dengan Panjang Gelombang 366 nm

Tabel 3. Tabel Nilai RF dari Fraksi Daun Pepaya

Eluent	Hasil Fraksi Ke-	Fraksi	366nm	
			Nilai FR	Warna Bercak
N-heksan:etilasetat	1	FR1	0.94	Merah muda
	2-3	FR2	0.94	Merah muda
			0.88	Merah muda
			0.44	Merah muda
	4-5	FR3	0.64	Merah muda
			0.55	Merah muda
	6-8	FR4	0.64	Merah muda
			0.55	Merah muda
			0.47	Merah muda
	9-11	FR5	0.55	Merah muda
			0.47	Merah muda
			0.43	Merah muda
			0.41	Merah muda
			0.17	Merah muda
	12	FR6	0.55	Merah muda
			0.47	Merah muda
			0.42	Merah muda
			0.4	Merah muda
			0.17	Merah muda
	13	FR7	0.47	Merah muda
			0.27	Merah muda
			0.17	Merah muda
			0.05	Merah muda
	14-15	FR8	0.25	Merah muda
0.17			Merah muda	
0.05			Merah muda	

	16-18	FR9	0.17	Merah muda
			0.05	Merah muda
	19-100	FR10	0.05	Merah muda

Perlakuan	Fraksi Daun Pepaya									
	FR1	FR2	FR3	FR4	FR5	FR6	FR7	FR8	FR9	FR10
Kontrol +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrol -	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Konsentrasi 11000 ppm	14	7	1	0	1	5	14	9	7	0
Konsentrasi 10000 ppm	13	6	1	0	0	4	13	8	7	0
Konsentrasi 9000 ppm	12	2	0	0	0	2	5	6	7	0
Konsentrasi 8000 ppm	12	2	0	0	0	2	5	3	4	0
Konsentrasi 7000 ppm	12	1	0	0	0	1	5	1	3	0

3. Uji Toksisitas Daun Pepaya terhadap Larva *Aedes aegypti*

Pengujian Fraksi-Fraksi Methanol Daun Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Larva *Aedes aegypti* sebagaimana tercantum dalam tabel 3 dibawah ini:

Tabel 4. Hasil Skrining Aktivitas Biolarvasida Fraksi Metanol Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap larva *Aedes aegypti*

4.3 Pembahasan

Penyebaran penyakit DBD disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dimana perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* pada fase telur hingga pupa berada didalam air. Cara paling optimal dalam pemutusan rantai perkembangan *Aedes aegypti* yakni dengan menghentikan perkembangannya pada fase larva (Noshirma, Willa, Waikabubak, Basuki, & Km, n.d.). Hal tersebut dikarenakan pada fase larva *Aedes aegypti* membutuhkan nutrisi makanan untuk perkembangan dan oksigen untuk respirasi, dibandingkan dengan fase telur dan pupa. Sehingga penggunaan bahan yang mengandung senyawa-senyawa tertentu dapat mempengaruhi perkembangan larva *Aedes aegypti*. Penggunaan bahan yang mampu meracuni larva *Aedes aegypti* juga harus diperhatikan mengingat tempat pertumbuhan larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah pada genangan air yang jernih misalnya penampungan air yang tidak ditutup, selokan, pot tanaman, kolam, dan lain sebagainya, sehingga dengan penggunaan bahan-bahan kimia dapat mempengaruhi ekosistem maupun manusia itu sendiri yang menggunakan air tersebut. Penggunaan bahan kimia yang mengandung senyawa kimia sintetik lain seperti pyrazophos, phosmet, dichlorodiphenyltrichloroethane juga sering digunakan sebagai larvisida dan insektisida. Namun usaha pemutusan mata rantai perkembangbiakan nyamuk dengan menggunakan zat kimia sintetik secara berlebihan sering memiliki efek samping yang membahayakan manusia seperti gangguan pernapasan dan pencernaan (Valiant et al., 2010).

Sehingga perlu penggunaan bahan yang berasal dari alam akan lebih aman dalam menjaga ekosistem makhluk mahluk hidup itu sendiri.

Pemilihan bahan alam yang digunakan dalam memutuskan rantai perkembangan larva nyamuk *Aedes aegypti* yakni yang memiliki sifat larvasida. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan yakni daun pepaya, dimana secara ekonomis mudah didapatkan namun mempunyai banyak manfaat. Daun pepaya yang digunakan dalam penelitian ini diekstraksi dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa yang terkandung didalamnya sehingga dapat dengan efisien memutuskan rantai perkembangan *Aedes aegypti* pada fase larva. Ekstraksi yang dilakukan yakni secara maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dan methanol. Kemudian dilanjutkan dengan pemisahan fraksi yang terkandung dalam ekstrak. Pemisahan fraksi dilakukan untuk membandingkan fraksi yang paling optimal dalam membunuh larva *Aedes aegypti*. fraksi dalam daun pepaya yang telah didapat dalam penelitian ini adalah 100 fraksi, dimana pemisahan fraksi melalui metode kromatografi kolom eluen yang digunakan yakni etil asetat:n-heksan dengan perbandingan 8:2. kemudian dilakukan KLT dengan fase gerak dengan eluaen yang sama. Kromatogram fraksi yang memiliki warna bercak dan nilai RF yang sama digabungkan sehingga diperoleh 10 gabungan fraksi.

Hasil fraksi kemudian diuji dengan menggunakan larva *Aedes aegypti* sebanyak 20 larva dengan waktu pengamatan selama 24 jam, dimana dapat diamati pada (tabel

3) yakni pada fraksi 4 dan 10 tidak menunjukkan adanya kematian jumlah larva yang digunakan dalam pengujian. Pada fraksi 3 dan 5 aktifitas kematian larva pada konsentrasi 10.000ppm dan 11.000ppm. Pada fraksi ke-2, 6, 8, 9 kematian tertinggi dengan konsentrasi 11.000ppm terdapat pada fraksi ke-8 kemudian 9, 2 dan 6. Pada fraksi 1 dan 7 dengan konsentrasi 11.000ppm memperoleh kematian larva yang sama yakni 14 larva namun pada konsentrasi 7.000ppm angka kematian tertinggi terjadi pada fraksi 1. Berdasarkan pada 10 fraksi yang telah diperoleh pada masing – masing fraksi tersebut memiliki nilai LC_{50} yang berbeda – beda dengan dosis yang paling optimal pada FR1. Perbedaan kematian larva pada masing-masing fraksi dapat disebabkan oleh jenis fraksi yg berbeda. Jika diamati berdasarkan nilai RF dan jumlah totolan yang telah diperoleh (tabel 2) perlu dilakukan pemisahan menggunakan pelarut yang sesuai untuk mendapatkan fraksi tunggal sehingga dapat diidentifikasi lebih lengkap mengenai jenis fraksinya. Dari Sehingga dapat diketahui senyawa yang dapat menyebabkan kematian pada larva. Kematian yang terjadi pada larva uji dapat disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun pepaya. Senyawa metabolit yang berkhasiat sebagai insektisida yakni melalui 3 cara yaitu sebagai racun perut (stomach poisoning), racun kontak (contac poisoning) serta sebagai racun pernapasan (fumigan) (Gandahusada, Illahude, & Pribadi, 2004). Adapun senyawa – senyawa yang terkandung dalam daun pepaya adalah

alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tannin, steroid, quinon (Sarjono, Putri, & Budiarti, 2019).

Saponin, terpenoid, steroid, quinon memiliki manfaat sebagai larvasida karena dapat menghambat bahkan membunuh larva *Aedes aegypti* yakni dengan cara merusak membran sel serta mengganggu proses metabolisme serangga (larva). Mekanisme kerja saponin sebagai larvasida juga diungkapkan oleh (Sarjono et al., 2019) yaitu dengan cara mendenaturasi protein dan enzim di dalam sel. Saponin dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Chaieb, 2010). Sedangkan kerja alkaloid sebagai larvasida yakni dapat mengakibatkan racun kontak (contac poisoning), dimana alkaloid berupa garam sehingga bisa mendegradasi membran sel kemudian masuk ke dalam dan merusak sel. Selain itu, alkaloid masuk ke dalam tubuh larva melalui absorpsi dan mendegradasi membran sel kulit. Menurut (Tuntun, 2018) , cara kerja alkaloid yaitu dengan mendegradasi membran sel kemudian masuk ke dalam untuk merusak sel serta mengganggu kerja saraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolin esterase. Kerja senyawa flavonoid sebagai larvasida dengan cara mempengaruhi kerja sistem pernapasan larva atau sebagai racun pernapasan (fumigan). Dimana flavonoid masuk ke dalam tubuh larva melalui siphon yang berada dipermukaan air dan menimbulkan kelayuan pada saraf, serta

menyebabkan kerusakan pada siphon akibatnya larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati. Cara kerja flavonoid juga diungkapkan oleh (Nukmal, Rosa, Apriliyani, & Kanedi, 2017) bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan pecahnya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma. Akibatnya membran sitoplasma akan pecah dan larva akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antilarva (larvasida) menurut (Nukmal et al., 2017) dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antilarva flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa pada asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2', 4' atau 2', 6'' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting pada aktivitas antilarva flavonoid. Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel larva dan lisosom. Mekanisme antilarva flavonoid dengan cara menghambat fungsi membran sel dan menghambat ikatan enzim ATPase dan fosfolipase. Mekanisme antilarva flavonoid dengan cara menghambat metabolisme energi yaitu dengan menghambat penggunaan oksigen oleh larva. Flavonoid menghambat sitokrom C

reduktase sehingga proses metabolisme dan biosintesis makromolekul terhambat. Selain senyawa saponin, alkaloid dan flavonoid, tanin juga berfungsi sebagai larvasida terutama sebagai racun perut (stomach poisoning) karena dapat menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim dan substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan serta merusak dinding sel pada larva. Peran tannin sebagai pertahanan tumbuhan dengan cara menghalangi larva dalam mencerna makanan yaitu dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan (protease dan amilase) serta mengganggu aktivitas protein usus (Medini, Fellah, Ksouri, & Abdelly, 2014). Keberadaan senyawa – senyawa metaboli tersebut mengindikasikan bahwa daun pepaya memiliki potensi sebagai biolarvasida.

4.4 Kesimpulan

Fraksi daun pepaya memiliki potensi sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

DAFTAR PUSTAKA

- Chaieb, I. (2010). Saponins as Insecticides : a Review. *Tunisian Journal of Plant Protection*.
- Gandahusada, S., Illahude, H. D., & Pribadi, W. (2004). Parasitologi kedokteran. *Parasitologi Kedokteran / Editor Srisasi Gandahusada, Henrry D. Illahude, Wita Pribadi*. <https://doi.org/2004>
- ITIS.?.(https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?se_arch_topic=TSN&search_value=126240#null)
- ITIS.?.(https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?se_arch_topic=TSN&search_value=22324#null)
- Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum* . *Journal of Taibah University for Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.01.003>
- Noshirma, M., Willa, R. W., Waikabubak, L. L. P. B., Basuki, J., & Km, R. (n.d.). *PENGENDALIAN VEKTOR PENYAKIT DEMAM BERDARAH DI INDONESIA*.
- Nukmal, N., Rosa, E., Apriliyani, & Kanedi, M. (2017). Insecticidal Effects of the Flavonoid-rich Fraction of Leaves Extract of Gamal (*Gliricidia sepium*) on the Coffee Mealybugs (*Planococcus citri* Risso.). *Annual Research & Review in Biology*, *16*(6), 1–9. <https://doi.org/10.9734/arrb/2017/36209>

- Sarjono, P. R., Putri, L. D., & Budiarti, C. E. (2019). *Antioxidant and antibacterial activities of secondary metabolite endophytic bacteria from papaya leaf (Carica papaya L.)* *Antioxidant and antibacterial activities of secondary metabolite endophytic bacteria from papaya leaf (Carica papaya L.)*.
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012112>
- Tuntun, M. (2018). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497.
<https://doi.org/10.26630/jk.v7i3.235>
- Valiant, M., Soeng, S., Tjahjani, S., Kedokteran, F., Maranatha, U. K., Prof, J., ... Bandung, N. (2010). Efek Infusa Daun Pepaya (Carica papaya L .) terhadap Larva Nyamuk Culex sp . *Jkm*, 9(2), 156–161.