

UJI AKTIVITAS LARVASIDA EMULSI MINYAK ATSIRI DARI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Siti Fatmawati Fatimah, Deasy Vanda Pertiwi*, Angga Fitriyantoro

1. Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Indonesia.

Korespondensi : Deasy Vanda Pertiwi | Universitas Ahmad Dahlan | deasy.pertiwi@pharm.uad.ac.id

Abstrak

Pendahuluan: Jumlah kasus demam berdarah yang berfluktuasi tiap tahunnya disebabkan pengendalian vektor (*Aedes aegypti*) berbasis insektisida kimiawi belum optimal. Banyak yang enggan menggunakan insektisida kimiawi karena berbagai efek samping yang dapat ditimbulkan. Diperlukan alternatif lain yang dapat digunakan yaitu menggunakan insektisida dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai larvasida adalah daun sirih merah.

Metode: Penelitian ini bertujuan melihat efektivitas minyak atsiri daun sirih merah (MASM) dalam membunuh larva *Aedes aegypti*. MASM yang digunakan diperoleh dari proses destilasi air, kemudian dibuat menjadi formula emulsi. Untuk menentukan hubungan konsentrasi minyak terhadap kematian larva digunakan uji korelasi.

Hasil: Penentuan pengaruh minyak terhadap kematian larva digunakan uji regresi linear dan untuk mendapatkan nilai Lethal Concentration (LC₅₀ dan LC₉₀) digunakan uji regresi Probit.

Kesimpulan: Hasil uji aktivitas larvasida emulsi MASM menunjukkan bahwa Formula 2 dengan perbandingan Tween 20 dan Span 80 (1:1) merupakan formula yang paling optimal dengan sifat fisik yang paling stabil, nilai LC₅₀ 22,69 ppm dan LC₉₀ 127,05 ppm.

Kata Kunci : *Aedes aegypti*, Larvasida, *Piper crocatum*, LC₅₀ and LC₉₀.

Diterima 8 Februari 2022; Accepted 20 Mei 2022

PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah kasus penyakit Demam berdarah Dengue (DBD) menunjukkan bahwa penyakit dengan nyamuk sebagai vektor utama ini masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Tindakan pengendalian terhadap nyamuk ditujukan pada nyamuk dewasa atau larva. Pengendalian populasi nyamuk dewasa dilakukan dengan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN), sedangkan pengendalian populasi larva dilakukan dengan pemberian larvasida kimia, larvasida biologi, monomolecular film, minyak, dan predator biologi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* (CDC, 2015).

Serangga seperti nyamuk termasuk ordo diptera, nyamuk *Aedes aegypti* dewasa betina merupakan nyamuk yang membawa virus dengue dan merupakan penyebab utama penyakit demam berdarah karena virus dalam tubuh penderita dibawa oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan menularkan DBD. Biasanya nyamuk betina meletakkan telur diatas permukaan air, menempel pada dinding tempat perindukan yang disenangi nyamuk biasanya berupa bak mandi, tempurung dan lain- lain. Setiap bertelur biasanya mencapai 100 butir. Pencegahan terjangkitnya DBD merupakan bagian terpenting dalamantisipasi terjangkitnya DBD, pencegahan dilakukan dengan mengendalikan jumlah nyamuk *Aedes aegypti*, khususnya pada stadium larva, karena jika perkembangan larva nyamuk dapat ditekan, maka akan menghentikan siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti*. Perkembangan larva dapat dihambat dengan menggunakan Larvasida alami, Larvasida alami merupakan salah satu sarana pengendalian hama alternatif yang layak dikembangkan karena senyawa larvasida dari tumbuhan memiliki beberapa kelebihan, antara lain tidak mencemari lingkungan dan tidak menimbulkan residu sehingga lebih aman bila diandingkan dengan Temephos (Abate) (Adhikari, Ghosh and Chandra, 2013).

Daun sirih (*Piper bettle*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai Larvasida (Morgan Row and Ho, 2009). Tanaman dari Famili *Piperaceae* ini merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak sekali spesies, salah satunya adalah tanaman sirih merah (*Piper crocatum*). Kedua tanaman ini memiliki perbedaan dalam hal warna yang berbeda dengan sirih hijau (*Piper bettle*). Perbedaan morfologi ini memungkinkan adanya perbedaan komposisi dan kandungan zat aktif dalam daun tersebut, sehingga Sirih merah (*Piper crocatum*) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk

mengamati adanya aktivitas larvasida pada tanaman tersebut dibandingkan dengan aktivitas daun Sirih hijau (*Piper bettle*) dari penelitian Row dan Ho, 2009. Sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki sejumlah senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, poleanolad, tanin, dan minyak atsiri.

Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Disamping itu juga, untuk memperoleh minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan cara lain seperti ekstraksi menggunakan pelarut organik atau dengan cara dipres (Baser dan Buchbauer, 2010). Daun sirih juga terkandung senyawa eugenol dalam minyak atsirinya. Senyawa inilah yang dapat digunakan untuk membasmi jentik nyamuk (Cheng *et al.*, 2004). Pada penelitian ini emulsi dibuat dengan mencampurkan minyak-air dengan bantuan surfaktan dan kosurfaktan untuk menurunkan tegangan permukaan minyak. Tween 20 merupakan surfaktan yang banyak digunakan pada pembuatan emulsi. Selain karena memiliki HLB yang besar yaitu 15, tween 20 stabil terhadap elektrolit, asam lemah, dan basa (Zafeiri *et al.*, 2017). Dalam kebanyakan kasus, penggunaan surfaktan saja tidak cukup mampu untuk mengurangi tegangan antar muka minyak-air, sehingga dibutuhkan kosurfaktan untuk membantu menurunkan tegangan antar muka Span 80 dapat berfungsi membantu mencegah pemisahan fase minyak dan air. Dalam penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi minyak atsiri untuk mengetahui LC₅₀ dan LC₉₀ dari formula emulsi minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*)

METODE

Isolasi Minyak Atsiri

Sebanyak 500 gram simplisia basah daun Sirih merah (*Piper crocatum*) didestilasi stahl dengan aquades 2/3 volume labu dengan suhu 60°C selama 4 jam. Minyak atsiri yang dihasilkan dipisahkan dan minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air dihilangkan dengan menambahkan Na₂SO₄ anhidrous. Minyak esensial yang telah bebas dari kandungan air siap digunakan dan dapat disimpan pada suhu 18°C. Minyak atsiri yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk proses selanjutnya. Minyak atsiri yang diperoleh diuji dengan melakukan pengukuran indeks bias.

$$\text{Rendemen minyak atsiri} = \frac{\text{berat hasil destilasi (gram)} \times 100\%}{\text{berat simplisia awal (gram)}}$$

Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan dosis terkecil dan dosis terbesar dari emulsi minyak atsiri daun sirih merah. Setelah dosis terkecil dan dosis terbesar ditemukan, range dosis keduanya digunakan untuk penentuan dosis, dengan cara diambil konsentrasi tengah 48ppm (Morgan Row and Ho, 2009) dari data konsentasi pengujian daun sirih hijau (*Pipper battle*) dengan range 20ppm-80ppm. Pembuatan larutan uji dimulai dengan pembuatan larutan stok 10.000 ppm untuk masing-masing ekstrak dengan melarutkan 0,2 gram minyak atsiri dalam 20 mL aquadest kemudian dibuat seri konsentrasi 200ppm, 100ppm, 75ppm, 50ppm, 25ppm, 10ppm, 1ppm kemudian dilakukan uji aktivitas larvasida.

Pembuatan emulsi minyak atsiri daun sirih merah

Minyak atsiri dicampurkan dengan span 80 dan tween 20 kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit (Campuran 1). Campuran 1 ditambahkan propilenglikol lalu tambahkan aquades sampai 50 mL. Campuran diaduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Karakteristik emulsi yang dihasilkan dapat diketahui dengan melakukan beberapa pengujian seperti: viskositas, sentrifugasi, *cycling test*, dan volume *creaming*.

Tabel 1. Formula emulsi minyak atsiri daun sirih merah

Nama Bahan	Kontrol Negatif	F1 (1% ^{b/b})	F2 (1% ^{b/b})	F3 (1% ^{b/b})	Kontrol positif (1% ^{b/b})
Minyak atsiri	0	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram (Abate)
Tween 20	4,5 gram	6,75 gram	4,5 gram	2,25 gram	0
Span 80	4,5 gram	2,25 gram	4,5 gram	6,75 gram	0
Propilenglycol	2,5 gram	2,5 gram	2,5 gram	2,5 gram	0
Aquadest	38 gram	38 gram	38 gram	38 gram	38 gram

Cycling Test

Metode ini digunakan untuk melihat kestabilan suatu sediaan dengan pengaruh variasi suhu selama waktu penyimpanan tertentu. Sediaan emulsi awal yang telah dibuat, dilakukan evaluasi lebih dulu. Kemudian disimpan pada suhu beku selama 24 jam, lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu kamar selama 24 jam, waktu selama penyimpanan dua suhu tersebut dianggap satu siklus. Percobaan ini diulang sebanyak 6 siklus selama 12 hari dan dilihat apakah terjadi pemisahan fase (creaming atau sedimentasi)

Uji Sentrifugasi

Uji ini dilakukan dengan cara 20 mL sediaan emulsi dimasukkan dalam tabung sentrifugasi dimasukkan ke dalam sentrifugator dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam. Kemudian diamati peisahan fase emulsi.

Volume creaming

Hasil pengamatan uji sentrifugasi diukur volume stabil yang tidak mengumpal (terbentuk cream). Hasil pengamatan volume *creaming* dihitung dalam % dengan rumus :

$$emulsion\ volume\ indeks : \frac{Volume\ emulsi\ stabil\ (Vu)}{Volume\ awal\ emulsi\ (Vo)}$$

Uji aktivitas larvasida

Larva *Aedes aegypti* yang dipilih untuk penelitian adalah larva instar III atau IV yang ditandai dengan usia larva 5-7 hari dan ukuran larva 4-8 mm. Larva tersebut dipastikan kembali dengan identifikasi morfologi larva secara mikroskopik. Sebanyak 25 larva instar III dan IV dipindahkan ke tabung gelas kaca yang berisi 20mL aquadest, kemudian tabung yang sudah terisi 25 larva ditamahkan larutan uji dari tiap kelompok perlakuan. Tabung penelitian ditutup dengan kain kasa dan diikat dengan karet gelang (WHO, 2005). Pengamatan larva *Aedes aegypti* dilakukan setelah 24 jam, larva dipindahkan pada tabung penelitian. Larva diamati dan dihitung jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati (WHO, 2005).

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan software SPSS. Pertama dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorof Smirnov*. Selanjutnya dilakukan uji komparasi untuk membandingkan rata-rata jumlah kematian larva antar kelompok. Untuk menentukan hubungan konsentrasi minyak asiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap kematian larva *Aedes aegypti*, digunakan uji korelasi. Selanjutnya untuk menentukan seberapa besar pengaruh minyak asiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap kematian larva *Aedes aegypti*, digunakan uji regresi linear.

HASIL

Destilasi minyak atsiri

Destilasi dilakukan untuk memisahkan minyak atsiri yang terdapat dalam simplisia daun sirih merah (*Piper crocatum*). Metode destilasi yang digunakan adalah destilasi uap. Diperoleh hasil destilasi minyak atsiri daun sirih merah seperti pada table 2.

Tabel 2. Hasil destilasi daun sirih merah

Berat simplisia	Minyak atsiri	Rendemen
2.000 gram	7gram	0,35% ^b / _b

Untuk memastikan identitas dari minyak atsiri yang diperoleh, dilakukan uji organolaptis dengan hasil seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Uji organoleptis minyak atsiri

Parameter uji	Pengamatan
Warna	Transparan
Bau	Getir aromatis
Rasa	Pahit
Kejernihan	Jernih

Uji kualitas minyak atsiri dengan indeks bias

Uji indeks bias digunakan untuk mengetahui kualitas minyak atsiri dari kemampuan pembiasan cahaya dibandingkan dengan cairan standar. Dari hasil pengujian indeks bias dengan refractometer diperoleh hasil yang mendekati dengan yang tertera pada jurnal, sehingga dapat dipastikan bahwa minyak atsiri daun sirih merah yang digunakan masih dalam kualitas baik, sehingga adapat digunakan dalam pengujian selanjutnya. Hasil uji indeks bias ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Indeks bias minyak atsiri

Indeks bias referensi (Saraswati, A., 2017)	Indeks bias hasil percobaan
1,46595 ±0,019	1,4760 ±0,001

Uji Pendahuluan minyak Atsiri

Uji pendahuluan dilakukan untuk mencari konsentrasi terendah dan tertinggi dari minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang memiliki aktifitas lervasida. Kemudian menghitung LC₅₀ untuk memperoleh konsentrasi optimal yang dapat digunakan untuk uji aktivitas emulsi minyak atsiri daun sirih merah. Variabel-variabel yang dikendalikan dalam uji pendahuluan yaitu sumber air, ph air, volume air, suhu, dan kelembapan ruangan, umur dan jumlah larva *aedes aegypti*. Sumber air yang digunakan adalah aquadest untuk meminimalisir zat asing yang dapat mempengaruhi kematian larva. pH air diuji agar tidak mengganggu pertumbuhan larva, volume air keseluruhan 100ml, umur larva 6 hari untuk mendapatkan larva instar III yang sudah memiliki morfologi yang sempurna, jumlah larva yang digunakan 25 larva. Suhu ruangan dikontrol pada suhu 26±2 dan kelembapan anara 60-80% larva instar III yang digunakan berasal dari Laboraturium Parasitologi Fakultas kedokteran, Universitas Gadjah Mada. Tabel 5 menunjukkan parameter yang digunakan dalam uji aktivitas larvasida.

Tabel 5. Parameter untuk uji aktivitas larvasida

Parameter	Standar (WHO, 2005)	Perlakuan
pH air	4-10	6,9
Volume	100ml/200ml	100ml
Suhu	25-28°C	25°C
Jumlah larva	25 larva	25 larva

Uji pendahuluan dilakukan selama 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan terhadap respon larva. Larva dinyatakan mati apabila larva sudah tidak bergerak dan tidak merespon terhadap sentuhan. Tabel 6 merupakan hasil yang diperoleh dari uji pendahuluan minyak atsiri daun sirih merah.

Tabel 6. Hasil uji pendahuluan

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata Kematian (%)
200	100%
100	80% ± 3,00
75	74% ± 2,00
50	64%± 3,00
25	48%± 6,00
10	27%± 2,00
1	2%± 2,00

0 0%

Berdasarkan hasil analisis probit menggunakan SPSS 27 LC₅₀ dan LC₉₀ diperoleh nilai berturut turut 26,9 ppm dan 208,9 ppm. Hasil tersebut digunakan sebagai dasar untuk menguji optimasi formula emulsi minyak atsiri daun sirih merah.

Hasil Uji Sifat Fisik Konsentrat Emulsi

Hasil Uji Organoleptis

Dari pengamatan uji organoleptis masing masing formula, formula I memiliki warna yang berbeda dari formula II dan II, meskipun tidak terlalu signifikan. Hasil uji organoleptis ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji organoleptis formula pada hari ke-0

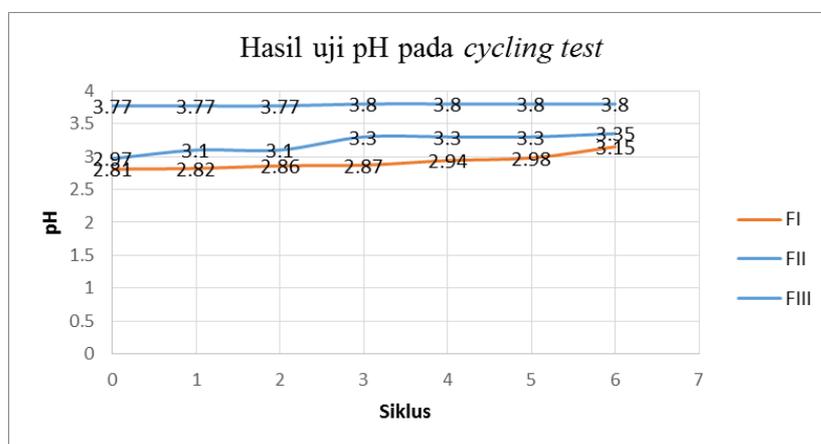
Formula	Warna	Konsistensi	Bau
FI	Putih	Homogen	Khas minyak
FII	Putih Kekuningan	Homogen	Khas minyak
FIII	Putih Kekuningan	Homogen	Khas minyak

Cycling test

Cycling test merupakan kondisi percepatan dengan adanya fluktuasi suhu untuk menentukan kestabilan produk selama penyimpanan. Tujuan dilakukannya *cycling test* adalah untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase, kehilangan viskositas, presipitasi dan agregasi dari sediaan yang terjadi akibat siklus perubahan suhu penyimpanan.

Hasil Evaluasi Pengukuran pH

Secara garis besar nilai pH seluruh formula emulsi selama 6 siklus *cycling test* penyimpanan mengalami peningkatan. Nilai awal pH emulsi yang dihasilkan pada formula I; formula II; formula III berturut turut sebesar 2,81. Nilai pH dari masing-masing formula menunjukkan terjadinya peningkatan selama 6 siklus *cycling test*, Nilai akhir pH emulsi yang dihasilkan pada formula I; formula II; formula III berturut turut sebesar 3,15. Hasil pengukuran pH sediaan selama proses *cycling test* disajikan dalam Gambar 1



Gambar 1. Hasil uji pH *cycling test*

Hasil Evaluasi Pengukuran Volume Creaming

Hasil pengamatan dari awal pembuatan emulsi sampai selama 6 siklus *cycling test* penyimpanan, formula I menunjukkan adanya ketidakstabilan berupa fenomena creaming, sedangkan pada formula II dan formula III menunjukkan adanya kestabilan dengan tidak terbentuk creaming, sehingga dapat disimpulkan bahwa formula dengan jumlah tween yang terlalu banyak menyebabkan pecahnya emulsi.

Tabel 8. Pengamatan Volume Creaming Emulsi minyak atsiri daun sirih merah

Sediaan	Awal	Akhir
FI	Homogen	Breaking
FII	Homogen	Homogen
FIII	Homogen	Homogen

Setelah 6 siklus *cycling test*, seluruh formula I mengalami ketidakstabilan seperti terlihat pemisahan menjadi 2 lapisan pada sediaan. Akan tetapi sifatnya reversible, karena pada saat dilakukan pengocokan dapat kembali lagi seperti sediaan awal yang homogen.

Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi merupakan uji yang sangat berguna untuk mengevaluasi dan meramalkan shelf-life suatu emulsi dengan mengamati pemisahan fase terdispersi karena pembentuk krim atau penggumpalan (Lachman, et al., 1994). Hasil uji sentrifugasi berupa gambar dan deskripsi yang lebih jelas dapat dilihat pada lampiran 7. Ketiga formula terjadi pemisahan fase setelah dilakukan uji sentrifugasi. Sampel terbagi menjadi dua bagian, dimana lapisan teratas adalah fase minyak dan lapisan terbawah merupakan fase air. Pembentukan suatu lapisan minyak secara cepat setelah sentrifugasi merupakan tanda pertama untuk fenomena ketidakstabilan yang menyebabkan umur simpan sediaan tersebut pun semakin cepat. Hal ini membuktikan bahwa ketiga formula masih kurang stabil terhadap pengocokan yang sangat kuat akibat pemisahan gravitasional yang dipercepat. Hasil uji disajikan pada tabel 9.

Tabel 9. Pengamatan stabilitas emulsi dengan uji sentrifugasi

Sediaan	Awal	Akhir
FI	Homogen	Terjadi pemisahan fase
FII	Homogen	Terjadi pemisahan fase
FIII	Homogen	Terjadi pemisahan fase

Uji berat jenis emulsi

Uji berat jenis emulsi digunakan untuk mengetahui stabilitas emulsi. Emulsi yang memiliki perbedaan berat jenis besar pada fase penyusunnya menyebabkan emulsi cenderung kurang stabil, menurut hukum Stokes, dengan peningkatan fase penyusun emulsi atau penambahan salah satu emulgator (Span atau tween) akan merubah kerapatan campuran, campuran yang memiliki berat jenis hampir sama atau mendekati berat jenis air maka akan lebih mudah untuk tercampurkan, sehingga lebih mudah homogen. Berikut data hasil uji berat jenis emulsi pada tabel 10

Tabel 10. Hasil uji berat jenis emulsi

Formula	berat jenis
FI	1,0199 gram/mL
FII	1,0129 gram/mL
FIII	1,0059 gram/mL

Dari data hasil berat jenis diketahui bahwa berat jenis pada Formula III yang paling mendekati berat jenis air sehingga paling mudah bercampur dengan air.

Hasil uji aktivitas emulsi minyak atsiri daun sirih merah

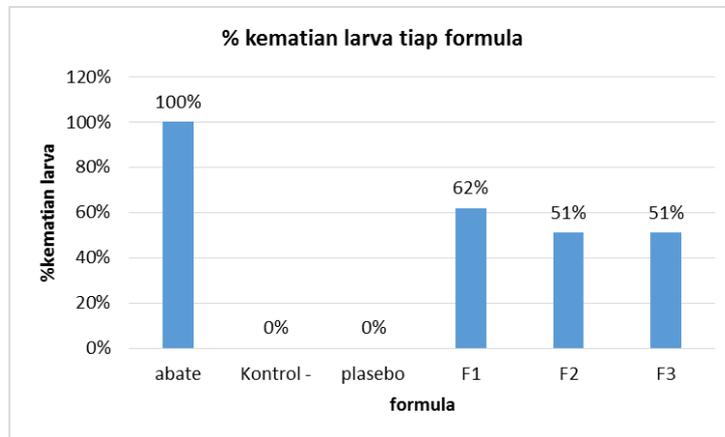
Pengujian aktivitas larvasida emulsi minyak atsiri dilakukan sebanyak 6 kelompok perlakuan, masing masing dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Enam kelompok tersebut yaitu kontrol positif (Abate), kontrol negatif (formula tanpa minyak atsiri), formula I, formula II, formula III. Penggunaan abate sebagai kontrol positif untuk mengetahui perbandingan aktivitas larvasida emulsi minyak atsiri dengan abate yang merupakan standar larvasida. Kontrol negative yang merupakan formula emulsi tanpa minyak atsiri untuk melihat pengaruh bahan dalam emulsi terhadap aktivitas larvasidanya.

Penggunaan hewan uji larva instar III dikarenakan pada fase tersebut larva sudah memiliki morfologi yang sempurna pada tahapan larva. Suhu pengujian dilakukan antara 25-28C dan kelembapan 60-80%. Pengujian dilakukan dengan mengambil 0,5ml formula emulsi kemudian dimaskkan dalam 200ml aquadest yang berisi 25 larva aedes aegypti instar III, perhitungan larva yang mati dilakukan setelah 24jam perlakuan. Kontrol positif yang digunakan yaitu Abate. Pembuatan kontrol positif diawali dengan pembuatan larutan stok Abate 1000 ppm kemudian dari larutan stok tersebut diencerkan dengan kaidah rumus pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi Abate 100 ppm. Hasil uji efektivitas larvasida emulsi minyak atsiri daun sirih merah ditunjukkan pada table 11.

Tabel 11. Hasil uji larvasida emulsi minyak atsiri daun sirih merah

Formula	Rata-rata kematian larva	Presentase Kematian	$\bar{x} \pm SD$
Abate	25	100%	100 ± 0.00
kontrol -	0	0%	0 ± 0.00
plasebo	0	0%	0 ± 0.00
F1	15.5	62%	62 ± 2.00
F2	12.75	51%	51 ± 2.00
F3	12.75	51%	51 ± 2.00

Dari data hasil uji aktivitas larvasida emulsi (tabel 11), dibuat grafik (Gambar 2) antar perlakuan untuk mengetahui perbedaan jumlah kematian larva akibat penggunaan emulsi minyak atsiri setelah 24 jam perlakuan.



Gambar 2. Persen (%) kematian larva pada uji efektivitas larvasida

Dari tabel 11 diketahui bahwa pada formula FI memiliki peningkatan aktivitas larvasida dengan ditandai kenaikan 12% aktivitas dibandingkan FII dan FIII. Dari hasil tersebut diperoleh nilai LC₅₀ berturut turut untuk formula I, formula II dan formula II adalah 20,6 ppm ; 22,67 ppm; 24,8 ppm.

PEMBAHASAN

Pada pembuatan minyak atsiri daun sirih merah ini digunakan metode destilasi uap dikarenakan prosesnya mudah dan dapat digunakan untuk simplisia dalam jumlah besar. Destilasi uap dilakukan dengan mengenai uap air panas pada simplisia daun sirih merah (Piper crocatum), dalam proses destilasi terjadi pemecahan dinding dan membran sel dalam simplisia karena pemanasan sehingga minyak atsiri dalam sel akan keluar dan menguap. Setelah penguapan, uap minyak atsiri bersama uap air akan menuju pipa kondensor, didalam kondensor terjadi proses pengembunan yang kemudian akan tertampung pada tabung hasil destilasi, dimana air akan berada di bawah, sedangkan minyak atsiri berada di atas, air yang berada diawah tabung hasil destilasi akan mengalir kembali ke panci destilasi. Kemudian hasil destilasi ditampung kedalam corong pisah, kemudian dipisahkan antara minyak dan air, sehingga diperoleh minyak atsiri daun sirih merah yang selanjutnya akan digunakan dalam penelitian.

Minyak atsiri daun sirih merah dibuat dalam bentuk konsentrat emulsi untuk meningkatkan kelarutan minyak atsiri dan meningkatkan stabilitasnya dalam penggunaan, karena pada penggunaannya, larvasida ditambahkan pada sejumlah besar air dalam wadah yang di duga terdapat larva *aedes aegypti*. Bahan bahan yang digunakan dalam formula emulsi antara lain minyak atsiri daun sirih merah sebagai zat aktif, span – tween sebagai zat pengemulsi, propilenglycol sebagai pengental emulsi, dan air seagai pembawa. Span- tween sebagai bahan pengemulsi akan meningkatkan distribusi minyak atsiri dalam air dan meningkatkan stabilitas minyak atsiri dalam air. Span merupakan emulgator yang lipofilik, sedangkan tween merupakan emulgator yang hidrofilik. Pada penelitian ini dibuat tiga formula emulsi tipe M/A minyak atsiri daun sirih merah dengan variasi konsentrasi tween 20 dan span 80. Tujuan memvariasikan konsentrasi tween 20 dan span 80 yaitu untuk memperoleh formula emulsi minyak atsiri daun sirih merah dengan aktivitas dan stabilitas fisik yang memenuhi persyaratan sebagai sediaan emulsi larvasida. Formula konsentrat emulsi minyak atsiri dibuat menjadi 1%. Hal ini sesuai dengan beberapa konsentrasi konsentrat emulsi larvasida yang beredar di pasaran, contoh nya Bactivec 0,6%.

Pada pengukuran pH hasil uji *cycling test*, diperoleh hasil peningkatan nilai pH. Peningkatan pH pada sediaan emulsi yang berasal dari minyak atsiri biasanya disebabkan oleh penguraian minyak akibat hidrolisis; oksidasi dengan adanya oksigen dari atmosfer dan cahaya; serta pertumbuhan mikroorganisme (Martin, et al., 1993). Akan tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab dari peningkatan pH pada sediaan emulsi.

Hasil uji larvasida dilakukan uji normalitas data dengan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dan menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan signifikansi $0,003 < 0,05(p)$ sehingga data terdistribusi normal. Sedangkan uji homogenitas data dengan *Test of Homogeneity of Variances* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan signifikansi $0,000 < 0,05(p)$ sehingga data terdistribusi homogen. Hasil analisis dari uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa semua kelompok formula emulsi memiliki nilai signifikansi $< 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar formula kecuali pada formula II dan formula III yang memiliki nilai signifikansi 1,0 sehingga tidak ada perbedaan aktivitas larvasida pada formula II dan III yang berarti adanya perubahan komposisi formula emulgator pada formula tidak mempengaruhi aktivitas larvasidanya.

Penelitian sebelumnya (Row dan Ho, 2009) tentang biolarvasida dari minyak atsiri daun sirih hijau (*Piper bettle*) diperoleh bahwa minyak atsiri daun sirih hijau (*Piper bettle*) bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} 24jam sebesar 48ppm. Bila dibandingkan toksisitasnya dengan minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*), nilai LC_{50} minyak atsiri daun sirih merah memiliki toksisitas yang lebih besar dibandingkan dengan minyak atsiri daun sirih (*Piper bettle*) dengan nilai LC_{50} sebesar 26,9ppm. Sedangkan untuk minyak atsiri daun sirih (*Piper bettle*) dalam bentuk emulsi dalam formula I; formula II; formula III memiliki nilai LC_{50} berturut turut 20,6 ppm ; 22,67 ppm; 24,8 ppm. Nilai LC_{50} emulsi minyak atsiri daun sirih merah 24 jam yaitu 20.6 ppm termasuk dalam kategori sangat toksik (5-50 mg/kg) Hal tersebut menunjukkan dengan dibuatnya menjadi bentuk sediaan emulsi dapat meningkatkan aktifitas minyak atsiri terhadap larva *Aedes aegypti*.

Dengan menghubungkan antara hasil uji karakteristik sediaan emulsi dengan uji aktivitas larvasida diketahui bahwa Formula I mengalami ketidakstabilan fisik setelah dilakukan uji *cycling test*, sedangkan formula II dan III memiliki stabilitas yang cukup dibuktikan dengan *cycling test* yang menunjukkan tidak ada perubahan pada organoleptis emulsi dan tidak ada perubahan konsistensi. Formula II lebih dipilih dari pada formula III dikarenakan harga tween 20 lebih murah daripada harga span 80, sehingga untuk pembuatan formula dalam jumlah banyak lebih dipilih FII.

KESIMPULAN

Sediaan emulsi minyak atsiri daun sirih merah Formula FII merupakan formula yang paling optimal digunakan sebagai larvasida karena memiliki stabilitas fisik yang baik dan memiliki aktifitas larvasida. Emulsi minyak atsiri daun sirih merah Formula II memiliki aktivitas larvasida dengan nilai LC_{50} 22,69 ppm dan LC_{90} 127,05 ppm yang termasuk kategori sangat toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan (LPPM

UAD), Yogyakarta yang telah memberikan dana pada penelitian ini melalui Pendanaan Penelitian Internal Tahun 2020.

REFERENSI

- Adhikari, U., Ghosh, A. and Chandra, G. (2013) ‘Nano particles of herbal origin: A recent eco-friendly trend in mosquito control’, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(2), pp. 167–168. doi: 10.1016/S2222-1808(13)60065-1.
- Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (2010) *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW. USA.
- Cheng, S.-S. *et al.* (2004) ‘Chemical Composition and Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils from Leaves of Different *Cinnamomum osmophloeum* Provenances’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), pp. 4395–4400. doi: 10.1021/jf0497152.
- Centers for Disease Control and Prevention (2015,) Larval Control and Other Vector Control Interventions. www.cdc.gov/vector_control dipublikasikan pada 10 juni 2015 diakses pada 1 maret 2018.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J.L., 1994, *Teori dan Praktek Farmasi Industri, Edisi Ketiga*, Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Martin, A., Swarbrick, J., Commarata, A (1993,) *Farmasi Fisik 2, Edisi Ketiga*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Morgan Row, L. C. and Ho, J. C. (2009) ‘The antimicrobial activity, mosquito larvicidal activity, antioxidant property and tyrosinase inhibition of piper betle’, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 56(3), pp. 653–658. doi: 10.1002/jccs.200900097.
- WHO, 2005, *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides*. World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention, and Eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme. [online] Geneva: WHO Press
- Zafeiri, I. *et al.* (2017) ‘Rapid Communication’, *Colloids and Interface Science Communications*, 17(C), pp. 5–9. doi: 10.1016/j.colcom.2017.02.001.