

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Aedes aegypti*

1. *Aedes aegypti* sebagai vektor Demam Berdarah Dengue (DBD)

Aedes aegypti merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus *dengue* penyebab penyakit demam berdarah. Penyebaran jenis ini sangat luas, meliputi hampir semua daerah tropis di seluruh dunia. *Aedes aegypti* merupakan pembawa utama (*primary vector*) dan bersama *Aedes albopictus* menciptakan siklus persebaran *dengue* di desa-desa dan perkotaan (Anggraeni, 2011).

Nyamuk ini berpotensi untuk menularkan penyakit demam berdarah dengue (DBD). DBD adalah suatu penyakit yang ditandai dengan demam mendadak, perdarahan baik di kulit maupun di bagian tubuh lainnya serta dapat menimbulkan syok dan kematian. Penyakit DBD ini terutama menyerang anak-anak termasuk bayi, meskipun sekarang proporsi penderita dewasa meningkat.

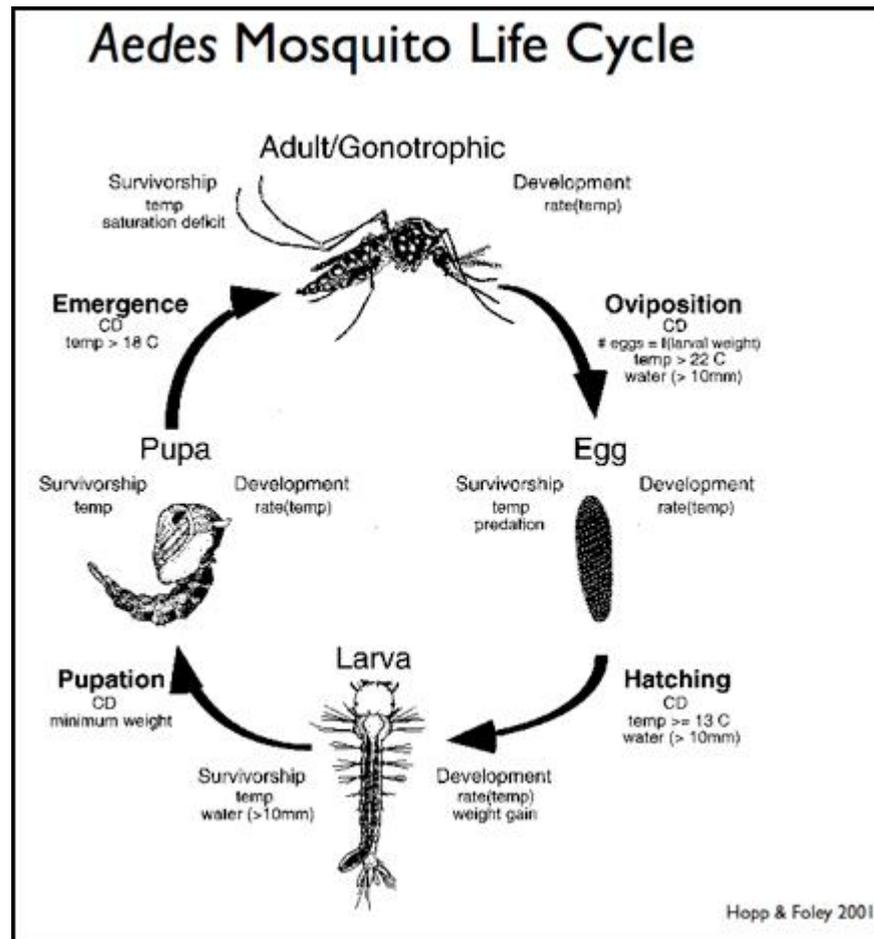
Penyebab penyakit demam berdarah ialah virus *Dengue* yang termasuk dalam genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. Terdapat empat serotipe dari virus *Dengue*, yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4, yang semuanya dapat menyebabkan DBD. Virus ini ditularkan melalui gigitan nyamuk

Aedes aegypti. Nyamuk betina terinfeksi melalui pengisapan darah dari orang yang sakit.

Tempat perindukan *Aedes aegypti* dapat dibedakan atas tempat perindukan sementara, permanen, dan alamiah. Tempat perindukan sementara terdiri dari berbagai macam tempat penampungan air (TPA) yang dapat menampung genangan air bersih. Tempat perindukan permanen adalah TPA untuk keperluan rumah tangga dan tempat perindukan alamiah berupa genangan air pada pohon. (Suhendro, 2006)

2. Siklus Hidup *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* mengalami metamorfosa sempurna, yaitu dari bentuk telur, jentik, kepompong dan nyamuk dewasa. Stadium telur, jentik, dan kepompong hidup di dalam air (aquatik), sedangkan nyamuk hidup secara teresterial (di udara bebas). Pada umumnya telur akan menetas menjadi larva dalam waktu kira-kira 2 hari setelah telur terendam air. Nyamuk betina meletakkan telur di dinding wadah di atas permukaan air dalam keadaan menempel pada dinding perindukannya. Nyamuk betina setiap kali bertelur dapat mengeluarkan telurnya sebanyak 100 butir. Fase aquatik berlangsung selama 8-12 hari yaitu stadium jentik berlangsung 6-8 hari, dan stadium kepompong (pupa) berlangsung 2-4 hari. Pertumbuhan mulai dari telur sampai menjadi nyamuk dewasa berlangsung selama 10-14 hari. Umur nyamuk dapat mencapai 2-3 bulan (Ridad dkk., 1999).



Gambar 3. Siklus Hidup *Aedes aegypti* (Sumber : Hopp & Foley, 2001)

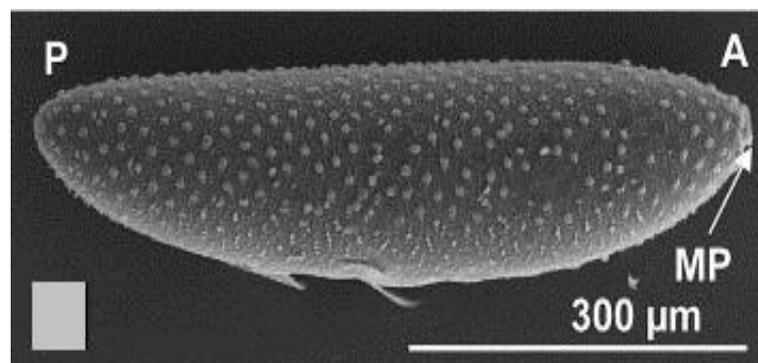
3. Morfologi *Aedes aegypti*

I. Stadium Telur

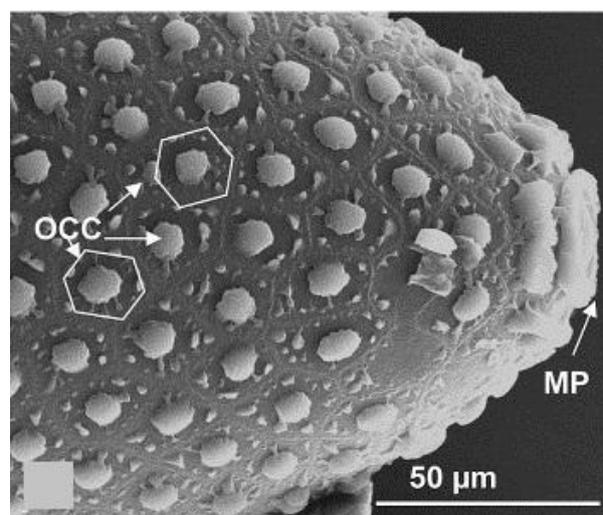
Menurut Herms (2006), telur nyamuk *Aedes aegypti* berbentuk ellips atau oval memanjang, berwarna hitam, berukuran 0,5-0,8 mm, dan tidak memiliki alat pelampung. Nyamuk *Aedes aegypti* meletakkan telur-telurnya satu per satu pada permukaan air, biasanya pada tepi air di tempat-tempat penampungan air bersih dan sedikit di atas permukaan air. Nyamuk *Aedes aegypti* betina dapat menghasilkan hingga 100 telur apabila telah menghisap darah manusia. Telur pada

tempat kering (tanpa air) dapat bertahan sampai 6 bulan. Telur-telur ini kemudian akan menetas menjadi jentik setelah sekitar 1-2 hari terendam air (Herms, 2006).

Telur *Aedes aegypti* diperkirakan memiliki berat 0,0010 - 0,015 mg dan (Astuti dkk ,2004). Telur *Aedes aegypti* tidak memiliki pelampung. Pada permukaan luar dinding sel tersebar suatu struktur sel yang disebut *outer chorionic cell* (Suman dkk, 2011).

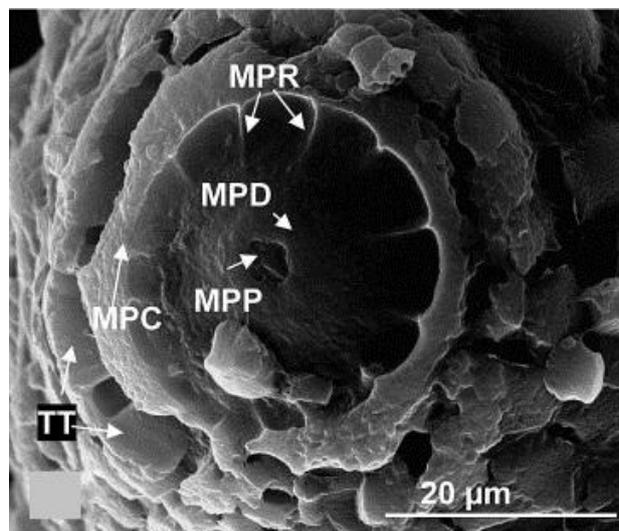


Gambar 4. Panjang telur *aedes aegypti*. (Sumber: Suman dkk 2011).



Gambar 5. Struktur *Micropyles* (MP) dan *Outer Chorionic Cell* (OCC) pada Telur *Aedes aegypti*. (Sumber: Suman dkk 2011).

Pada salah satu ujung telur terdapat poros yang disebut dengan *micropyles*. *Micropyles* berfungsi sebagai tempat masuknya *spermatozoid* ke dalam telur sehingga dapat terjadi pembuahan. Pada *micropyles* terdapat struktur-struktur penting yang menunjang fungsinya tersebut, yaitu *micropylar corolla*, *micropylar disc*, *micropylar pore*, *micropylar ridge* dan *tooth-like tubercle* (Suman dkk, 2011).



Gambar 6. Struktur Penunjang *Micropyles* pada Telur *Aedes aegypti*. MPC, *micropylar corolla*; MPD, *micropylar disc*; MPP, *micropylar pore*; MPR, *micropylar ridge*; TC, *central tubercle*; TP, *peripheral tubercle*; TT, *tooth-like tubercle*. (Sumber: Suman dkk 2006).

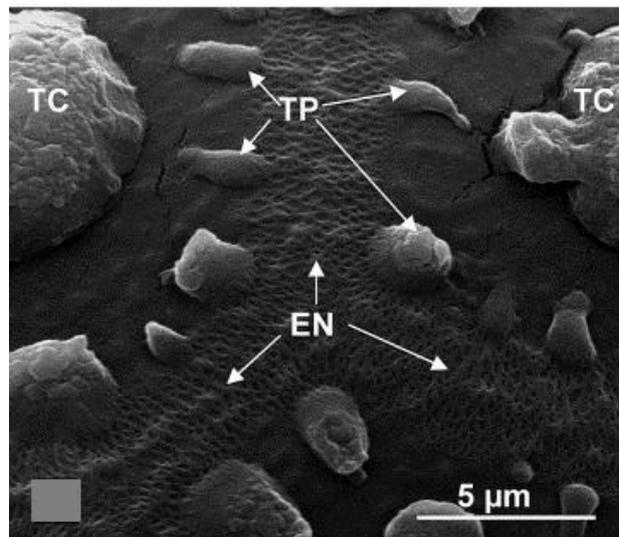
Meskipun *chorion* telur nyamuk *Aedes aegypti* adalah struktur protein padat, namun rentan terhadap pengeringan dan *unresistant* terhadap deterjen atau zat pereduksi. Misalnya, ketika telur dipindahkan ke lingkungan yang sangat kering segera setelah oviposisi, akan cepat terdehidrasi (Junsuo dan Jianyong, 2006).

Pada dasarnya semua protein *chorion* akan terlarut ketika telur matang diletakkan dalam larutan yang mengandung agen pereduksi kuat. Namun, dalam lingkungan yang lembab, *chorion* akan menjadi sangat tahan terhadap kekeringan dalam waktu 2 jam setelah oviposisi, sebuah proses yang disebut *chorion hardening*. Protein merupakan komponen utama dalam *chorion* dan mereka menjadi tidak larut setelah proses *chorion hardening* atau “pengerasan korion”. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh modifikasi struktural protein *chorion* yang mengarah ke *insolubilization* (Junsuo dan Jianyong, 2006).

Studi ultrastruktur mengungkapkan bahwa ada dua lapisan dalam *chorion* nyamuk *Aedes aegypti*, yaitu *endochorion* dan *exochorion*. Pada nyamuk, *endochorion* adalah lapisan elektron padat homogen dan *exochorion* terdiri dari lapisan pipih dengan *tubecle* menonjol (Junsuo dan Jianyong, 2006).

Dalam waktu 1-2 jam setelah peletakan telur, lapisan endokorion akan berubah dari lunak menjadi keras dan gelap serta kadang menjadi *impermeable*. Telur dari nyamuk *Aedes aegypti* pada saat pertama kali diletakkan berwarna putih, kemudian berubah menjadi gelap sampai hitam dalam waktu 12-24 jam. Perubahan warna pada telur terjadi karena adanya lapisan endokorion yang merupakan lapisan pelindung telur (Junsuo dan Jianyong, 2006).

Tubercle pada lapisan *exochorion* terdiri dari *tubercle central* dan *tubercle perifer*. *Tubercle central* dikelilingi oleh *tubercle perifer* yang membentuk bidang heksagonal yang dihubungkan oleh *exochorionic network* (Suman dkk, 2011).



Gambar 7. Struktur *Exochorionic* Telur *Aedes Aegypti*.
TC, *Central Tubercle*; TP, *Peripheral Tubercle*; EN, *Exochorion Network*. (Sumber: Suman dkk 2011).

II. Stadium Larva (Jentik)

Menurut Herms (2006), larva nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai ciri khas memiliki siphon yang pendek, besar dan berwarna hitam. Larva ini tubuhnya langsing, bergerak sangat lincah, bersifat fototaksis negatif dan pada waktu istirahat membentuk sudut hampir tegak lurus dengan permukaan air. Larva menuju ke permukaan air dalam waktu kira-kira setiap 1/2-1 menit, guna mendapatkan oksigen untuk bernapas. Larva nyamuk *Aedes aegypti* dapat berkembang selama 6-8 hari (Herms, 2006).

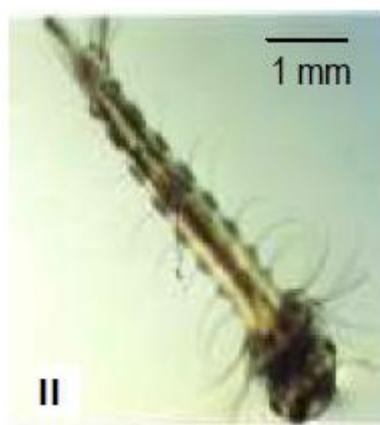
Berdasarkan data dari Depkes RI (2005), ada empat tingkat (instar) jentik sesuai dengan pertumbuhan larva tersebut, yaitu:

- a. Larva instar I; berukuran paling kecil yaitu 1-2 mm atau satu sampai dua hari setelah telur menetas, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas dan corong pernapasan pada *siphon* belum menghitam (Hoedojo, 1993).



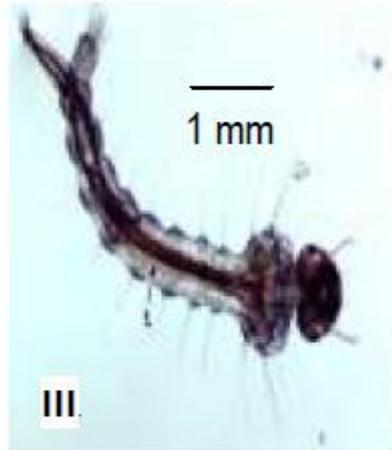
Gambar 8. Larva Instar I *Aedes aegypti* (Sumber: Gama, Z.P., *et al.*, 2010)

- b. Larva instar II; berukuran 2,5-3,5 mm berumur dua sampai tiga hari setelah telur menetas, duri-duri dada belum jelas, corong pernapasan sudah mulai menghitam (Hoedojo, 1993).



Gambar 9. Larva Instar II *Aedes aegypti* (Sumber: Gama, Z.P., *et al.*, 2010)

- c. Larva instar III; berukuran 4-5 mm berumur tiga sampai empat hari setelah telur menetas, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman (Hoedojo, 1993).



Gambar 10. Larva Instar III *Aedes aegypti* (Sumber: Gama, Z.P., *et al.*, 2010)

- d. Larva instar IV; berukuran paling besar yaitu 5-6 mm berumur empat sampai enam hari setelah telur menetas dengan warna kepala gelap (Hoedojo, 1993).



Gambar 11. Larva Instar IV *Aedes aegypti* (Sumber: Gama, Z.P., *et al.*, 2010)

III. Stadium Pupa

Pupa berbentuk koma, gerakan lambat, sering ada di permukaan air. Pada pupa terdapat kantong udara yang terletak diantara bakal sayap nyamuk dewasa dan terdapat sepasang sayap pengayuh yang saling menutupi sehingga memungkinkan pupa untuk menyelam cepat dan mengadakan serangkaian jungkiran sebagai reaksi terhadap rangsang. Bentuk nyamuk dewasa timbul setelah sobeknya selongsong pupa oleh gelembung udara karena gerakan aktif pupa. Pupa bernafas pada permukaan air melalui sepasang struktur seperti terompet yang kecil pada toraks (Aradilla, 2009).



Gambar 12. Pupa *Aedes aegypti* (Sumber: Zettel, 2010)

IV. Nyamuk dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berukuran lebih kecil daripada ukuran nyamuk rumah (*Culex quinquefasciatus*) (Djakaria, 2006). Nyamuk *Aedes aegypti* dikenal dengan sebutan *black white mosquito* atau *tiger mosquito* karena tubuhnya memiliki ciri yang khas, yaitu dengan adanya garis-garis dan bercak-bercak putih keperakan di atas dasar warna hitam. Sedangkan yang menjadi ciri khas utamanya adalah ada

dua garis lengkung yang berwarna putih keperakan di kedua sisi lateral dan dua buah garis lengkung sejajar di garis median dari punggungnya yang berwarna dasar hitam (*lyre shaped marking*) (Soegijanto, 2006).

B. Juvenile Hormone dan Ecdysone Hormone pada *Aedes aegypti*

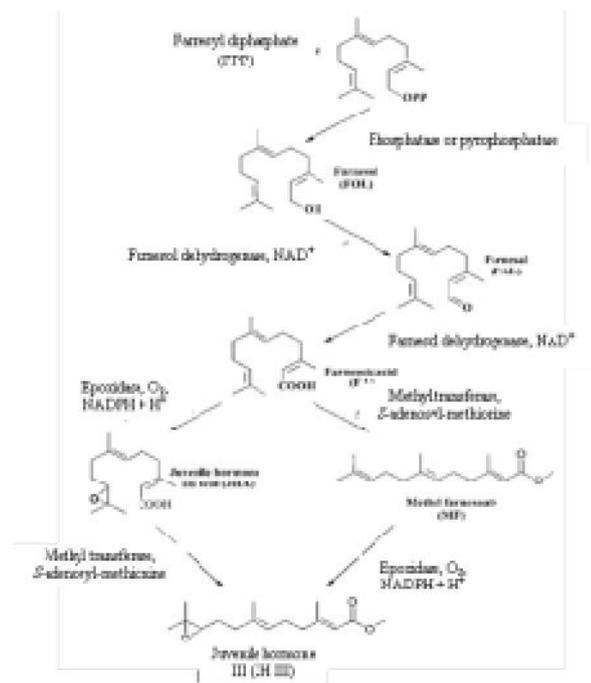
1. Sintesis Juvenile Hormone (JH)

Moulting dan metamorfosis serangga diatur oleh dua hormon yaitu *ecdysteroid* dan *juvenile hormone* (JH) (Gilbert *et al.*, 1996). *Ecdysteroid* adalah golongan dari steroid polyhydroxylated yang merupakan hormon moulting. Pada sebagian besar larva serangga, kelenjar *prothoracic* akan mensintesis dan mengeluarkan *ecdysone* dan kemudian mengalami hidroksilasi menjadi bentuk *20-hydroxyecdysone*. Bentuk *20-hydroxyecdysone* akan diterima oleh target seperti epidermis yang selanjutnya akan timbul pengaruh hormon (Smith 1985, Gilbert *et al.*, 2002). JH merupakan sesquiterpene yang disintesis dan disekresikan oleh *corpora allata* (Kou & Chen, 2000). Selama perkembangan serangga, *ecdysteroid* dan JH akan mempengaruhi perubahan larva dari satu tahap ke tahap berikutnya.

JH merupakan kelompok *sesquiterpenoids* yang mengatur banyak aspek dari fisiologi serangga, seperti pertumbuhan dan perkembangan serangga, reproduksi, diapause, dan polyphenism. Pada serangga JH merupakan hormon yang mengatur pertumbuhan larva. JH disintesis di dalam

corpora allata (CA) dan mempunyai peranan yang besar di dalam pertumbuhan dan perkembangan serangga (Martinez, 2007).

JH disintesis dan dilepaskan dari sepasang kelenjar endokrin yang terletak di samping otak yang disebut *corpora allata*. JH juga penting untuk proses produksi telur pada serangga betina.



Gambar 13. Biosintesis JH III pada Serangga (Sumber: Bede, 2001)

2. Juvenile Hormone Sebagai Kontrol Pertumbuhan

Metamorfosis serangga dikendalikan oleh JH. Regulasi JH mempunyai peranan yang penting dalam mengendalikan metamorfosis. Proses dimana JH berperan dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan serangga, dimulai dari sel *neurosecretory* yang ada pada otak akan menghasilkan allatotropin yang digunakan untuk menstimulasi *corpora allata* untuk

memproduksi JH (Li *et al.*, 2005). Proses selanjutnya JH akan dikeluarkan oleh *corpora allata* ke dalam *hemolymph*. JH yang berada pada *hemolymph* akan diikat oleh *juvenile hormon binding protein* (JHBP) yang berfungsi untuk memudahkan larut dalam *hemolymph* dan didistribusikan pada sel epidermis. JHBP kemudian akan terdistribusi pada sel epidermis yang kemudian akan terjadi moulting. Konsentrasi JH dalam *hemolymph* menentukan apakah larva akan moulting pada fase berikutnya atau akan berubah bentuk menjadi pupa demikian juga menentukan apakah pupa akan berubah bentuk menjadi dewasa. Jika dalam *hemolymph* larva konsentrasi JH tinggi maka larva akan melakukan moulting tetapi jika konsentrasi JH rendah sedangkan hormon *20-hydroxyecdysone* rendah maka akan memberi signal larva untuk berubah menjadi pupa. Proses pengaturan JH pada serangga dapat dilihat pada gambar 3 (Gilbert *et al.*, 1980).

Ewer *et al.* (1997) memberi gambaran bagaimana pengaktifan hormon mempengaruhi perilaku yaitu proses ecdysis larva *Manduca sexta*. Ecdysis merupakan pergantian kulit dari kulit lama pada saat moulting, proses ini tergantung *positive feedback* antara hormon *eclosion* dan JH. Pelepasan hormon *neuropeptide* dari sel *neurosecretory* dalam sistem syaraf pusat menyebabkan *peripheral* yang terletak pada kelenjar epitrakheal melepaskan hormon yang akan memicu ecdysis.

3. Hormon Juvenile terhadap Sintesis Vitellogenin

Perkembangan dan reproduksi tergantung dari JH dan *ecdysteroids*. Pada sebagian besar serangga, JH merupakan hormon yang berperan besar dalam proses regulasi sintesis dan pengambilan vitellogenin, tetapi faktor *ecdysteroid* juga diperlukan dalam proses ini.

Martinez, (2007) juga melaporkan bahwa JH merupakan hormon yang mempunyai peranan penting dalam mengatur perkembangan *previtellogonic ovarian*. Bukti yang menunjukkan bahwa JH mengatur perkembangan *previtellogonic ovarian* yaitu penelitian yang dilakukan oleh Martinez, (2007) terhadap nyamuk. JH di dalam *Aedes aegypti* jumlahnya sedikit pada saat eclosion, dan meningkat pada hari pertama setelah imago muncul. Jumlah JH yang naik pada saat awal sangat penting untuk menyempurnakan organ reproduksi serangga betina. Kecepatan biosintesis JH oleh *corpora allata* secara *in vitro* mencerminkan tingkat JH dalam nyamuk, biosintesis JH sangat rendah pada serangga betina baru yang muncul dan meningkat drastis selama 24 jam setelah eclosion. Aktivitas *corpora allata* nyamuk dikendalikan oleh faktor-faktor yang terdapat di kepala (Li *et al.*, 2005), dan signal nutrisi akan mempengaruhi aktivasi sintesis JH atau menghambat sintesis JH.. Pemenggalan kepala dalam 1 h dari *emergence* atau penghilangan CA setelah eclosion mencegah pertumbuhan *ovarian previtellogenic*.

Menurut Hagedorn, (1997 dalam Caroci, 2004) mekanisme JH mempengaruhi sintesis vitellogenin pada nyamuk *A. aegypti* yaitu

neurosecretory pada otak akan menghasilkan allatotropin yang selanjutnya memerintah *corpora allata* untuk menghasilkan JH. JH yang sudah dihasilkan oleh *corpora allata* akan menstimuli *fat body* dari incompetence menjadi competence untuk menghasilkan vitellogenin. Pada kondisi ini JH hanya menstimuli *fat body* menjadi kompeten (siap untuk menghasilkan vitellogenin), JH tidak memerintah *fat body* untuk menghasilkan vitellogenin. JH juga mempengaruhi ovary dari immature ovary menjadi ovary yang mature tetapi inaktif (keadaan ovary siap untuk menjalankan perintah berikutnya). JH juga mempengaruhi perilaku mating dan feeding serangga, setelah nyamuk menghisap darah maka otak akan menyuruh *neurosecretory* sel untuk menghasilkan *Egg development neurohormone* (EDNH) dan selanjutnya akan dilepaskan dalam hemolymph. EDNH dalam hemolymph kemudian akan diterima oleh ovary yang inaktif (resting stage ovary) dan menstimuli sel folikel untuk menghasilkan *ecdysteroid*. *Ecdysteroid* selanjutnya akan memerintah *fat body* yang sudah kompeten untuk menghasilkan vitellogenin. Vitellogenin kemudian akan diambil oleh ovary untuk menyusun kuning telur, dan selanjutnya akan menghasilkan telur

C. Bawang Putih (*Allium sativum L.*)

1. Taksonomi Bawang Putih

Menurut Takhtajan, taksonomi bawang putih adalah sebagai berikut

Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Subkelas	: <i>Liliidae</i>
Superordo	: <i>Lilianae</i>
Ordo	: <i>Amaryllidales</i>
Famili	: <i>Alliaceae</i>
Subfamili	: <i>Alliodeae</i>
Suku	: <i>Allieae</i>
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium sativum L.</i>

2. Kandungan Senyawa Bawang Putih

Bawang putih mengandung senyawa-senyawa seperti S-allilsistein, S-allil merkaptosistein, saponin, N-fruktosil arginin, g-glutamil-S-allil-L-sistein dan S-allil-L-sistein sulfoksida (aliin), meetiin, (1)-S-(trans-1-propenil)-L-sistein sulfoksida, dan sikloalliin (13), serta alliinase. Melalui pengolahan semua jenis alliin kecuali sikloalliin menjadi senyawa tiosulfinat (allisin). Allisin yang ada akan terdegradasi menjadi diallilsulfida (DAS), diallildisulfida (DADS), diallil trisulfida, metilallil sulfida, metilallil trisulfida, 2-vinil-4H-1, 3-dithiin, 3-vinil-4H-1, 2-thiin, dan (E,Z)-ajoene (Amagase, 2006)

3. Ekstrak Bawang Putih

Yang dimaksud dengan ekstrak bawang putih adalah sebuah sediaan yang mengandung zat aktif atau konsentrat (ekstrak) sebuah bahan, dimana bahan tersebut berasal dari sebuah tanaman bawang yang umbinya terbagi menjadi beberapa siung dan memiliki wangi dan rasa yang tajam (bawang putih/ *Allium sativum L.*) (Dorland, 2007).

4. Bawang Putih sebagai Insektisida

Kandungan senyawa yang sudah ditemukan pada bawang putih diantaranya adalah "*allicin*" dan "*sulfur amonia acid alliin*". *Sulfur amonia acid alliin* ini oleh enzim *allicin lyase* diubah menjadi *piruvic acid*, *amonia*, dan *allicin* anti mikroba. Selanjutnya *allicin* mengalami perubahan menjadi "*diallyl sulphide*". Senyawa *allicin* dan *diallyl sulphide* inilah yang memiliki banyak kegunaan dan berkhasiat obat. *Allicin* dan turunannya juga bersifat larvasida.

Mekanisme insektisida dari bawang putih diduga diperankan oleh zat aktif yang terkandung di dalamnya. Kandungan *allicin* dan *dialil sulphide* memiliki sifat bakterisida dan bakteristatik. *Allicin* bekerja dengan cara mengganggu sintesis membran sel parasit sehingga parasit tidak dapat berkembang lebih lanjut. *Allicin* juga bersifat toksik terhadap sel parasit maupun bakteri. *Allicin* bekerja dengan merusak sulfhidril (SH) yang terdapat pada protein. (bawang putih)

Kandungan dari bawang putih lain yang diduga berperan adalah *garlic oil* dan *flavonoid*. *Garlic oil* bekerja dengan mengubah tegangan permukaan air sedangkan *flavonoid* bekerja sebagai inhibitor pernapasan. *Flavonoid* diduga mengganggu metabolisme energi di dalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron. Adanya hambatan pada sistem pengangkutan elektron akan menghalangi produksi ATP dan menyebabkan penurunan pemakaian oksigen oleh mitokondria (Bloomquist, 2004).

D. Insektisida

Insektisida adalah pestisida khusus yang digunakan untuk membunuh serangga dan invertebrata lain. Secara harfiah insektisida berarti pembunuh serangga, berasal dari Bahasa Latin “*cida*” yang berarti pembunuh. Berdasarkan sifat dan cara memperolehnya insektisida dibagi menjadi insektisida anorganik dan insektisida organik. Pada umumnya insektisida modern adalah insektisida organik dan insektisida ini dibagi menjadi insektisida organik alami dan buatan. Insektisida organik alami diperoleh dengan cara penyulingan zat-zat alami. Insektisida ini terdiri dari insektisida botanis yaitu yang diperoleh dari bahan tumbuhan dan insektisida mineral yang diperoleh dari penyulingan minyak bumi. Metode penggolongan insektisida yang lain adalah berdasarkan sifat kimianya. Kelas senyawa kimia insektisida dapat ditunjukkan berdasarkan bahan aktifnya (*active ingredient*), yaitu bahan kimia yang mempunyai efek racun (*toksik*).

1. Ovisida Botani

Ovisida merupakan salah satu jenis insektisida. Ovisida berasal dari kata latin *ovum* yang berarti telur dan *cide* yang bermakna “pembunuh”. Ovisida merupakan salah satu golongan insektisida yang mekanisme kerjanya membunuh atau menghambat perkembangbiakan telur (Hoedjojo, 2003).

Salah satu contoh ovisida alami adalah ovisida botani, yaitu insektisida yang bahan aktifnya berasal dari tumbuhan atau bagian tumbuhan seperti akar, daun, batang atau buah. Bahan-bahan ini diolah menjadi berbagai bentuk, antara lain bahan mentah berbentuk tepung, ekstrak atau resin yang merupakan hasil pengambilan cairan metabolit sekunder dari bagian tumbuhan atau bagian tumbuhan dibakar untuk diambil abunya dan digunakan sebagai ovisida (Novizan, 2002).

2. Mekanisme Kerja Ovisida

Proses penghambatan terhadap daya tetas telur *Aedes aegypti* diduga terjadi karena masuknya zat aktif insektisida ke dalam telur melalui proses difusi pada bagian permukaan cangkang melalui titik-titik poligonal yang terdapat pada seluruh permukaan telur serangga tersebut. Masuknya zat aktif insektisida disebabkan potensial insektisida dalam air yang berada di lingkungan luar telur lebih tinggi (hipertonis) dari pada potensial air yang terdapat di dalam telur (hipotonis). Masuknya zat aktif insektisida ke dalam telur akan mengganggu proses metabolisme dan menyebabkan berbagai macam pengaruh terhadap telur (Astuti dkk., 2004).

E. Teknik Ekstraksi Senyawa

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Pemilihan metode ekstraksi senyawa bukan atom dipergunakan oleh beberapa faktor, yaitu sifat jaringan tanaman, sifat kandungan zat aktif serta kelarutan dalam pelarut yang digunakan. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar dalam senyawa non polar. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan), lalu pelarut kepolarannya menengah (diklor metan atau etilasetat) kemudian pelarut bersifat polar (metanol atau etanol) (Harborne, 1987).

Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat, ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung (Harborne, 1987).

1. Ekstraksi Cair – Cair

Ekstraksi cair-cair diperlukan untuk mengekstraksi senyawa glikosida yang umumnya polar (aglikon berikatan dengan gula monosakarida dan disakarida). Ekstraksi cair-cair untuk glikosida biasanya dilakukan terhadap ekstrak etanol atau metanol awal. Ekstrak awal ini dilarutkan dalam air kemudian diekstraksi dengan etil asetat dan n-butanol. Glikosida terdapat dalam fase etil asetat atau n-butanol (Harborne, 1987).

Selain itu, ekstraksi cair-cair dilakukan terhadap reaksi awal untuk menghilangkan lemak dan ekstrak tersebut jika bagian tumbuhan yang diekstraksi belum dihilangkan lemaknya pada ekstrak awal (Harborne, 1987).

2. Maserasi

Metode ekstraksi umum digunakan dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder adalah maserasi (penggunaan pelarut organik). Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan dalam temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan karena dengan perendaman sampel tanaman akan mengakibatkan pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam sel dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dalam memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum, pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000;).

Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kasar yang telah diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator, dimana seluruh senyawa bahan alam yang

terlarut dalam pelarut yang akan digunakan berada dalam ekstrak kasar tersebut. Selanjutnya ekstrak kasar tersebut akan dapat dipisahkan berdasarkan komponen-komponen dengan metode fraksinasi partisi dengan menggunakan corong pisah.

3. Ekstraksi Sinambung

Ekstraksi sinambung dilakukan dengan menggunakan alat Soxhlet. Pelarut penyair yang ditempatkan di dalam labu akan menguap ketika dipanaskan, melewati pipa samping alat Soxhlet dan mengalami pendinginan saat melewati kondensor. Pelarut yang telah berkondensasi tersebut akan jatuh pada bagian dalam alat Soxhlet yang bersimplisia dibungkus kertas saring dan menyisiknya hingga mencapai bagian atas tabung sifon. Seharusnya seluruh bagian linarut tersebut akan tertarik dan ditampung pada labu tempat pelarut awal. Proses ini berlangsung terus menerus sampai diperoleh hasil ekstraksi yang dikehendaki (Harborne, 1987).

Keuntungan ekstraksi sinambung adalah pelarut yang digunakan lebih sedikit dan pelarut murni sehingga dapat menyaring senyawa dalam simplisia lebih banyak dalam waktu lebih singkat dibandingkan dengan maserasi atau perkolasi. Kerugian cara ini adalah tidak dapat digunakan untuk senyawa-senyawa termolabil (Harborne, 1987).

4. Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya