

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN MANGROVE *Rhizophora stylosa* SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP PERUBAHAN HISTOLOGI SEL EPITEL MIDGUT LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*

Jumari Ustiawaty¹, Edy Zacharia²

^{1,2} Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik “Medica Farma Husada” Mataram
email: jumari.ustiawaty@gmail.com¹, urbrsuddm@yahoo.com²

Abstract

Abstract. Objective: to determine the potential of ethanol extract of the *Rhizophora stylosa* mangrove leaves as a biolarvacide by looking at the Lethal Concentration (LC50 and LC90) toxicity and histological changes in the midgut epithelial cells of larvae *Aedes aegypti*. Research methods: this research is purely experimental use method Posttest-Only Control Group design. The concentration of ethanol extract of *Rhizophora stylosa* mangrove leaves to be tested is 0 ppm (negative control), 2500 ppm (P1), 3000 ppm (P2), 3500 ppm (P3), 4000 ppm (P4), 4500 ppm (P5), 5000 ppm (P6), and 5500 ppm (P7) and temephos 1 ppm (positive control). The sample used was 20 tail larvae *Ae. aegypti* instar III. Results of research: this study indicate that the ethanol extract of *Rhizophora stylosa* mangrove leaves has an activity as a biolarvacide seen from the LC50 of 2885 ppm and LC90 of 4857 ppm. Results of the one way ANOVA test obtained a significance of 0,000, meaning that there is a very significant difference in the amount of mortality of larvae *Ae. aegypti* instar III due to exposure to *Rhizophora stylosa* mangrove ethanol extract. The post hoc test (LSD) showed that there were differences in the number of larval deaths at concentrations of 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, 5000 ppm, and 5500 ppm. But the concentration of 5000 ppm was not different from the concentration of 5500 ppm. The results of examination of the histological changes of the midgut digestive tract in larvae *Ae. aegypti* instar III shows that the higher concentration of ethanol extract of *Rhizophora stylosa* mangrove leaves, the more severe damage that occurs in midgut larvae *Ae. aegypti* instar III. Spearman Rank test results obtained significance value $p = 0,000 < \alpha = 0.05$. So it can be concluded that there is a change in the midgut histology of larvae *Ae. aegypti* instar III shown by the presence of crushing that occurs in the peritrophic membrane, epithelial cells, and basement membrane after exposure to *Rhizophora stylosa* mangrove leaves extract.

Keywords: *Aedes aegypti*, Biolarvacida, *Rhizophora stylosa* leaves, Extracts, Histologi, Midgut.

1. PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* yang membawa virus dengue dari satu penderita ke penderita lain (Hairani, 2014). Penyebaran penyakit ini sangat cepat dan dapat menyerang siapa saja baik anak-anak, remaja maupun orang dewasa dan seringkali menyebabkan kematian jika tidak ditangani secara dini (Mansjoer, 2001). Sampai saat ini, vaksin DBD belum ditemukan sehingga pemberantasan penyakit tersebut dipusatkan pada pemberantasan nyamuk pembawa virus dengue.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah dan mengendalikan vektor nyamuk DBD, salah satunya

menggunakan insektisida sintetik (abate) yang berbahan aktif temephos. Penggunaan bahan insektisida sintetik dikenal efektif, murah, mudah, dan praktis. Namun penggunaan insektisida sintetik ini dapat berdampak negatif terhadap lingkungan karena mengandung senyawa kimia yang berbahaya bagi manusia dan lingkungan serta menimbulkan resistensi dari organisme target (Nugraha, D.R. 2011; Lestari dan Yanti., 2014). Berdasarkan fenomena tersebut maka diperlukan insektisida yang efektif dan aman untuk membasmi nyamuk DBD.

Insektisida nabati merupakan salah satu sarana pengendalian hama alternatif yang layak dikembangkan, karena senyawa insektisida dari tumbuhan mudah terurai di lingkungan, tidak meninggalkan

residu di udara, air dan tanah serta mempunyai tingkat keamanan yang lebih tinggi sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia serta tidak menimbulkan resistensi bagi serangga (Kardinan, 2004; Nugraha, D.R. 2011; Lestari dan Yanti., 2014; Nugroho, 2011). Senyawa kimia dalam tumbuhan yang berpotensi sebagai biolarvasida, adalah golongan sianida, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, steroid dan minyak atsiri (Kristanti dkk, 2008; Nugroho, 2011). Salah satu tumbuhan yang bisa dikembangkan sebagai biolarvasida adalah tumbuhan mangrove.

Tumbuhan mangrove kaya akan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tanin (Darlian, L dkk., 2011). Rhizophoraceae yang merupakan salah satu famili dari tumbuhan mangrove diketahui memiliki aktivitas biolarvasida. Ekstrak kloroform *Rhizophora apiculata* efektif membunuh larva *Aedes aegypti* instar III untuk waktu 72 jam dengan nilai LC₅₀ 338,364 mg/L (Ariyanti dan Tukiran, 2012). Ekstrak dan fraksi etanol akar *Rhizophora mucronata* juga diketahui efektif sebagai biolarvasida (Ali, *et al.*, 2014). Untuk mendapatkan tumbuhan yang memiliki aktivitas biolarvasida dilakukan pendekatan kemotaksonomi. Tumbuhan yang memiliki suku yang sama diharapkan memiliki kandungan kimia yang sama sehingga akan memiliki aktivitas yang sama pula.

Rhizophora stylosa atau bakau merah merupakan salah satu tanaman mangrove yang memiliki berbagai macam manfaat dalam pengobatan, antara lain sebagai obat masuk angin, menghentikan perdarahan, diare, demam, malaria, dan lain-lain (Akyar, 2010). Belum adanya laporan mengenai aktivitas biolarvasida dari ekstrak etanol daun *Rhizophora stylosa* terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti*, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh

ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* terhadap perubahan histologi sel epitel *midgut* larva nyamuk *Aedes aegypti*. Ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* diharapkan memiliki efektifitas tinggi dalam membunuh larva *Aedes aegypti* sehingga dapat menjadi alternatif larvasida yang aman dalam rangka pencegahan dan penanggulangan penyakit yang disebarkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* serta dapat mengatasi resistensi yang terjadi.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan kajian penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Subyek dari penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III hasil kolonisasi dari laboratorium Etomologi - *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga, sedangkan untuk melihat gambaran histologi larva *Ae.aegypti* di Laboratorium Histologi Dinas Kesehatan Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Pemerintah Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Tahapan Penelitian:

a. Pengumpulan Sampel dan Ekstraksi

Sampel yang digunakan adalah daun mangrove *Rhizophora stylosa* segar berwarna hijau diperoleh dari daerah tambak Pantai Cemare, Lombok Barat. Sampel daun dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian dipotong-potong sampai berukuran kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka selama \pm 2 bulan. Setelah kering, dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk (*simplisia*) dan siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi daun mangrove dilakukan dengan metode ultrasonic. Sebanyak 100 gram serbuk daun mangrove di masukkan dalam erlenmeyer, lalu tambahkan 800 ml etanol 96%. Setelah itu, Erlenmeyer

dimasukkan dalam alat ultrasonic dan dilakukan sonikasi selama 2 menit. Proses sonikasi ini diulangi sebanyak tiga kali, disertai pengadukan. Hasil sonikasi disaring dengan corong gelas yang dilengkapi dengan kertas saring dan ditampung di erlenmeyer lain. Residu dalam kertas saring dimasukkan kembali ke dalam erlenmeyer pertama, selanjutnya ditambahkan etanol 96% sebanyak 600 ml. Proses sonikasi dan penyaringan diulangi kembali. Setelah itu penambahan etanol 96% yang terakhir sebanyak 600 ml ke dalam residu di dalam erlenmeyer dan dilakukan proses sonikasi dan penyaringan hingga didapat filtrat dan residu (total etanol yang digunakan adalah 2 liter). Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat lalu dimasukkan dalam cawan untuk kemudian dihilangkan sisa pelarutnya.

b. Uji Biolarvasida

Koleksi Telur dan Pemeliharaan Larva

Koleksi telur dilakukan dengan mendapatkan telur nyamuk *Ae. aegypti* yang dikembangbiakan di Laboratorium Entomologi *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga. Sebanyak 1000 butir telur *Aedes aegypti* dipindahkan ke dalam bak plastik yang telah diisi dua liter air mineral untuk ditetaskan menjadi larva Intisar III. Larva *Ae. Aegypti* instar III diamati pada hari ke lima atau siphon sudah berwarna hitam, dengan pemberian pakan lele sebagai makanan larva. Dipilih dan dipisahkan larva instar III dalam gelas plastik masing-masing 20 ekor tiap gelas plastik.

Uji Hayati Larva Aedes aegypti Instar III

Penelitian ini menggunakan konsentrasi 0 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, 5000 ppm, dan 5500 ppm. Tiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak lima kali. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang terlebih dahulu kemudian

dilartutkan dengan larutan EtOH, lalu dilarutkan dengan 1000 ml air mineral. Sebanyak 100 ml ekstrak dari setiap konsentrasi ditempatkan dalam gelas plastik. Kelompok kontrol positif menggunakan air mineral ditambahkan temephos 1 ppm. Sedangkan kelompok kontrol negatif menggunakan air mineral yang ditambahkan dengan EtOH. Sebanyak 20 ekor larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III dimasukkan ke dalam masing-masing gelas plastik dengan menggunakan pipet. Kemudian dibiarkan selama 24 jam untuk melihat efek mortalitas akibat paparan ekstrak. Larva *Ae. aegypti* yang mati dihitung dengan menggunakan *handcounter*. Dengan prosedur yang sama uji tersebut dilakukan terhadap blanko yang berisi aquades.

Uji Histologi Midgut Larva Aedes aegypti

Pada pengujian histologi midgut, dibuat sediaan jaringan hewan dengan metode parafin. Metode paraffin yang digunakan untuk membuat sediaan histologi jaringan hewan yaitu menggunakan media pendukung (*supporting media*) padat paraffin untuk menghasilkan irisan tipis jaringan.

Setelah 24 jam, jaringan larva diawetkan dengan larutan fiksatif formadehida 37% pada suhu kamar selama 24 jam dengan cara direndam. Sampel jaringan larva didehidrasi menggunakan etanol bertingkat (secara berturut-turut etanol 70%, 80%, 96% dan etanol absolute) dan *embedding*. Jaringan midgut larva yang akan diperiksa dipotong dan difragmentasi menggunakan microtome, kemudian bagian tersebut diwarnai menggunakan hematoxylin dan pewarna 1% eosin.

c. Analisis Data

Menentukan nilai toksisitas dan efektifitas diukur dengan nilai *lethal concentration* (LC₅₀ dan LC₉₀) dari ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa*, yaitu dengan cara data larva yang

mati, konsentrasi, dan jumlah larva yang dimasukkan dan dianalisis dengan program SPSS 23.0 dengan analisis probit. Ada tidaknya perbedaan biolarvasida dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* menggunakan uji statistik analisis varian (ANOVA) dimana awalnya diuji normalitas dan homogenitas.

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap perubahan histologi *midgut* larva *Ae. aegypti* menggunakan uji statistik analisis korelasi Spearman rank.

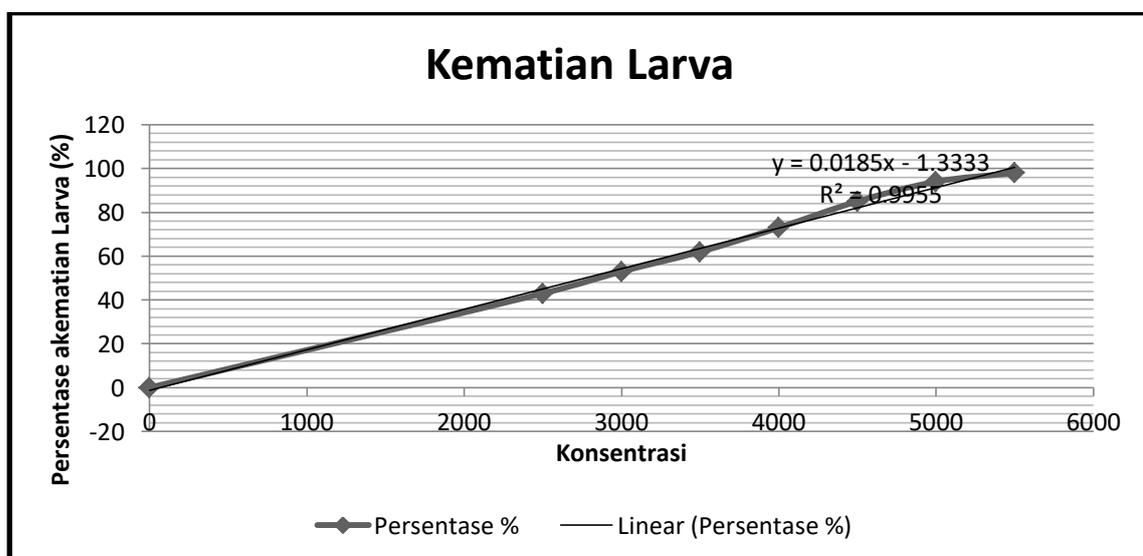
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian biolarvasida terhadap larva *Ae. aegypti* dalam penelitian ini dilakukan dengan metode celup (*dipping*) karena larva nyamuk ini bersifat akuatik atau hidup di dalam air. Persentase kematian larva akibat paparan ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap larva *Ae. aegypti* instar III dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1 di bawah ini.

Table 1. Data hasil rata-rata kematian larva *Ae. aegypti* pada uji biolarvasida *)

Konsentrasi Ekstrak	Jumlah Larva	Rerata Jumlah Kematian Larva <i>Aedes aegypti</i>	Persentase (%)
0 ppm	20	0	0
2500 ppm	20	8,6	43
3000 ppm	20	10,6	53
3500 ppm	20	12,4	62
4000 ppm	20	14,6	73
4500 ppm	20	17	85
5000 ppm	20	18,8	94
5500 ppm	20	19,6	98

*) Data jumlah kematian larva *Ae. aegypti* dihitung setelah 24 jam diberi perlakuan ekstrak daun mangrove *Rhizophora stylosa*



Gambar 1. Grafik hubungan antara persentase kematian larva *Ae. aegypti* (%) dengan konsentrasi (ppm) ekstrak daun mangrove *Rhizophora stylosa*

Dari hasil penelitian ini, pada perlakuan uji biolarvasida dengan ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa* sebagaimana terlihat pada pada tabel 1, menunjukkan bahwa setiap konsentrasi mempunyai daya bunuh (toksisitas) yang berbeda terhadap jumlah mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III. Konsentrasi terendah ekstrak daun mangrove *R. stylosa*, yaitu 2500 ppm menyebabkan mortalitas 43 % larva dan mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III pada konsentrasi tertinggi yaitu 5500 ppm sebesar 98 %. Pada konsentrasi uji, suhu air, kelembaban dan pH tidak berpengaruh pada kematian larva yaitu suhu air berkisar 26-27°C, kelembaban 76-82%, dan pH 7. Hal ini sesuai dengan pernyataan Depkes (2012), suhu air yang optimum untuk perkembangan larva adalah 25-29°C. Menurut Djati dkk. (2012), kelembaban udara yang optimum bagi kehidupan larva *Ae. aegypti* antara 70-90%. Menurut Clark *et al.*, (2004) dan Pratama (2009) menyatakan bahwa larva nyamuk *Ae. aegypti* berkembang biak pada air dengan pH 5,8 – 8,6.

Berdasarkan grafik pada gambar 1 terlihat bahwa hasil eksperimen uji hayati menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan angka kematian, artinya semakin tinggi konsentrasi masing-masing ekstrak, semakin tinggi pula angka mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove *R. stylosa* bersifat toksik terhadap larva *Ae. aegypti* instar III. Sehingga penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol ekstrak daun mangrove *R. stylosa* efektif sebagai biolarvasida nyamuk *Ae. aegypti*. Nilai koefisien korelasi (R^2) = 0.995 hal ini berarti bahwa adanya hubungan kuat antar konsentrasi ekstrak yang diberikan dengan jumlah mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III. Nilai koefisien korelasi (R^2) yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan yang kuat antar

variabel. Koefisien korelasi memiliki hubungan fungsional dengan koefisien regresi yaitu semakin tinggi nilai koefisien korelasi maka nilai koefisien regresi akan semakin tinggi, sehingga daya prediktifnya semakin tinggi (Sugiyono, 2007).

Berdasarkan hasil analisis probit dalam penelitian ini, memperlihatkan bahwa LC (*Lethal Concentratio*) baik LC₅₀ dan LC₉₀. Nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* adalah 2885 ppm yang terletak pada kisaran konsentrasi 2699 – 3040 ppm. Hal ini berarti berarti bahwa konsentrasi 2885 ppm ekstrak daun mangrove *R. stylosa* menyebabkan mortalitas 50% larva *Ae. aegypti* instar III. Sedangkan nilai LC₉₀ dari ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa* adalah 4857 ppm yang terletak pada kisaran konsentrasi 4567 – 5268 ppm. Hal ini berarti berarti bahwa konsentrasi 4857 ppm ekstrak daun mangrove *R. stylosa* menyebabkan mortalitas 90% larva *Ae. aegypti* instar III. Hasil penelitian ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Amelia FP dan Suyatno (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) memiliki aktivitas biolarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC₅₀ sebesar 4684.20 mg/L, 3889,43 mg/L, 1853,31 mg/L, dan 951,32 mg/L untuk masing-masing waktu inkubasi 24, 48, 72, dan 96 jam (Amelia FP dan Suyatno, 2014)

Beberapa penelitian biolarvasida tanaman mangrove juga sudah pernah dilakukan yaitu penelitian yang dilakukan oleh Ariyanti dan Tukiran (2012), yang mengatakan bahwa ekstrak kloroform *Rhizophora apiculata* efektif membunuh larva *Aedes aegypti* instar III untuk waktu 72 jam dengan nilai LC₅₀ 338,364 mg/L. Selain itu juga, penelitian yang dilakukan oleh Ali, *et al.*, (2014) menyatakan bahwa ekstrak dan fraksi etanol akar *Rhizophora*

mucronata juga diketahui efektif sebagai biolarvasida.

Ekstrak mangrove *R. stylosa* ini masuk ke dalam tubuh serangga dan memiliki efek larvasida. Menurut Kristanti dkk, (2008) dan Nugroho, (2011), senyawa kimia dalam tumbuhan yang berpotensi sebagai biolarvasida, adalah golongan sianida, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, steroid dan minyak atsiri (Kristanti dkk, 2008; Nugroho, 2011). Senyawa yang memiliki aktivitas biolarvasida tersebut juga terkandung pada tanaman mangrove. Menurut Darlian, L dkk., (2011), tumbuhan mangrove kaya akan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tannin.

Berdasarkan hasil penelitian Syahputra, E. (2001), menyatakan bahwa aktivitas biolarvasida ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik golongan flavonoid dan alkaloid. Senyawa bioaktif dari tumbuhan yang mempunyai aktivitas insektisida antara lain dari golongan triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid.

Senyawa aktif yang terkandung dalam mangrove *Rhizophora stylosa* salah satunya adalah flavonoid, dimana menurut Minarni dkk., (2013) juga menyebutkan bahwa flavonoid dapat masuk menembus kutikula larva *Ae. aegypti* kemudian merusak membran sel larva *Ae. aegypti*. Flavonoid menyebabkan permeabilitas rongga badan pada nyamuk *Ae. aegypti* menjadi rusak dan *hemolimfe* tidak dapat didistribusi secara sempurna (Hendrawati, 2009). Flavonoid bekerja sebagai sebagai racun pernapasan yaitu dengan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas

dan akhirnya mati (Cania, B dan Setyaningrum, E. 2013).

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis pada uji biolarvasida ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa* terhadap larva *Ae. aegypti* intisar III terlihat bahwa tubuh larva yan mati tampak berwarna putih atau kuning, kaku dan ukurannya menjadi lebih memanjang dari ukuran semula, kutikula rusak, duri lateral abdomen terlepas dari kutikula. Sedangkan pada perlakuan Temepos dengan konsentrasi 1 ppm terlihat bahwa larva mengkerut, kutikula rusak, duri lateral abdomen terlepas dan toraknya rusak. Pernyataan ini diperkuat oleh Aminah dkk (2001) yang menyebutkan bahwa larva yang mati ukurannya lebih panjang, hal ini dapat terjadi karena relaksasi otot pada larva yang mendapat makan tambahan steroid.

Ekstrak mangrove *R. stylosa* dalam penelitian ini termasuk dalam racun kontak, racun pernafasan, dan racun perut. Larvasida racun kontak masuk ke dalam tubuh serangga dengan menembus kutikula. Minarni dkk., (2013) juga menyebutkan bahwa flavonoid dapat masuk menembus kutikula larva *Ae. aegypti* kemudian merusak membran sel larva *Ae. aegypti*. Flavonoid menyebabkan permeabilitas rongga badan pada nyamuk *Aedes aegypti* menjadi rusak dan *hemolimfe* tidak dapat didistribusi secara sempurna (Hendrawati, 2009). Flavonoid bekerja sebagai sebagai racun pernapasan yaitu dengan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati.

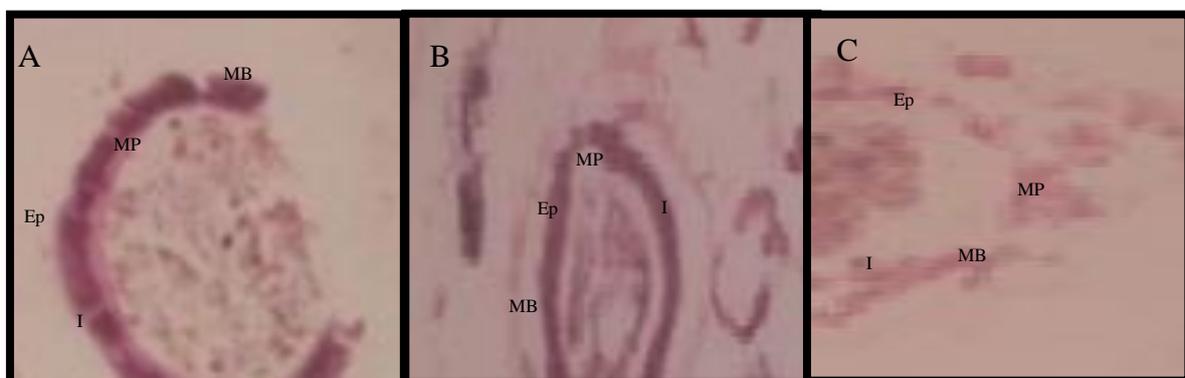
Larvasida racun kontak dapat membunuh larva bila terkena bagian tubuh luarnya. Larva yang keracunan akan menggulung badannya karena iritasi dalam tubuhnya (Tarumingkeng, 1992).

Selain itu juga, larvasida dapat pula masuk melalui oral (mulut). Racun yang terminum oleh larva, masuk ke dalam saluran pencernaan makanan (perut) kemudian di dalam saluran pencernaan makanan, racun ini diserap sehingga racun yang ikut terserap di dalam perut dapat menyebabkan keracunan dan kematian larva (*stomach poison*). Metabolit sekunder tumbuhan, yaitu saponin dapat menyebabkan iritasi lambung. Saponin juga dapat menurunkan nafsu makan larva kemudian larva *Ae. aegypti* akan mati karena kelaparan. Saponin masuk melalui mulut (*stomach poison*) (Yunita, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian ini, larva *Ae. aegypti* yang masih hidup diduga karena sedikit mengkonsumsi senyawa saponin sehingga tidak mati akibat iritasi saluran pencernaan oleh saponin, sedangkan pada larva *Ae. aegypti* yang mati ukuran tubuhnya bertambah panjang karena meminum saponin (racun perut) dalam jumlah banyak sehingga terjadi dua mekanisme dalam tubuh larva tersebut, yaitu steroid mempengaruhi pertumbuhan larva bersamaan juga mengiritasi saluran pencernaan larva yang mengakibatkan kematian. Larva *Ae. aegypti* yang mati karena terpapar dengan temephos yang merupakan pestisida.

Pestisida-pestisida yang tergolong di dalam senyawa fosfat organik kerjanya menghambat enzim *cholinesterase*, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf, karena tertimbunnya *acetylcholin* pada ujung syaraf tersebut. Hal inilah yang mengakibatkan kematian (O'Brian, 1976). Jadi, seperti senyawa-senyawa organofosfat lainnya, maka temephos juga bersifat *anticholinesterase*. Keracunan fosfat organik pada serangga diikuti oleh ketidak tenangan, hipereksitasi, tremor dan konvulsi, kemudian kelumpuhan otot (*paralise*).

Setelah diberi perlakuan ekstrak daun mangrove *R. stylosa* selama 24 jam, larva *Ae. aegypti* instar III yang mati diambil untuk dilakukan pengamatan histologi kerusakan midgut larva *Ae. aegypti* instar III dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini



Gambar 2. Hasil histologi sel epitel *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III. A. Kontrol negatif; B. Kontrol Positif; C. Larva setelah terpapar ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa* konsentrasi 5500 ppm. Keterangan: MP (Membran peritrofik), Ep (Sel epitel), MB (Membran basalis), I (Inti sel epitel)

Dari gambaran histologi (gambar 2) menunjukkan perubahan struktur pada membran peritrofik, epitel, membrane basalis, dan kutikula. Kandungan saponin diduga berpengaruh terhadap penurunan tegangan permukaan selaput mukosa saluran pencernaan sehingga dinding saluran pencernaan larva rusak (Shashi dan Ashoke, 1991). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Aminah, (2001), saponin dari buah lerak menyebabkan kerusakan pada dinding traktus digestivus larva *Ae. Aegypti*. Hasil penelitian Costa *et al*, (2012) yang menjelaskan bahwa ekstrak metanol buah Sirsak (*Annona coriacea*) efektif merusak sel kolumnar epitel larva *Ae. aegypti*. Permukaan apikal sel kolumnar ini membentuk tonjolan yang berorientasi ke arah lumen. Selain itu juga penelitian yang dilakukan oleh Setya AK dan Dewangga VS, (2017) mengatakan bahwa

ekstrak biji mengkudu (*Morinda Citrifolia*) dapat menyebabkan kerusakan pada vakuola sitoplasma dalam sel-sel kolumnar dan regenerasi usus tengah larva *Ae. aegypti*, dimana permukaan apikal sel kolumnar menunjukkan penonjolan sitoplasma ke arah lumen.

Senyawa aktif saponin yang diduga terdapat pada daun mangrove *Rhizophora stylosa*. Saponin memiliki aktifitas surfaktan yang kuat, membentuk busa yang stabil, bersifat sebagai *emulsifying agent* (Hostettmann dan Marston, 1995). Sifat khas lain dari saponin adalah berasa pahit, berbusa dalam air, beracun bagi binatang berdarah dingin, tidak beracun bagi binatang berdarah panas, dan mempunyai aktivitas hemolisis (merusak sel darah merah) (Robinson, 1995).

Table 2. Tingkat kerusakan *midgut* larva *Ae. aegypti* setelah terpapar ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa*

Konsentrasi Ekstrak	Kerusakan <i>midgut</i> Larva <i>Ae. aegypti</i> instar III								Total	
	Tidak ada kerusakan		Kerusakan ringan		Kerusakan sedang		Kerusakan berat			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0 ppm	10	100	0	0	0	0	0	0	10	100
2500 ppm	0	0	9	90	1	10	0	0	10	100
3000 ppm	0	0	2	20	5	50	3	30	10	100
3500 ppm	0	0	0	0	6	60	4	40	10	100
4000 ppm	0	0	0	0	4	40	6	60	10	100
4500 ppm	0	0	0	0	3	30	7	70	10	100
5000 ppm	0	0	0	0	1	10	9	90	10	100
5500 ppm	0	0	0	0	1	10	9	90	10	100
Total	10	12,5	11	13,75	21	26,25	38	47,5	80	100

Kerusakan *midgut* larva *Ae. aegypti* tiap konsentrasi berbeda, hal ini dapat dilihat pada tabel 2, dimana kelompok kontrol negatif menunjukkan tidak ada kerusakan, membran peritrofik masih utuh dan inti masih ada dalam epitel, serta epitel masih menempel pada membran basalis, karena pada kelompok ini larva tidak mengkonsumsi biolarvasida. Sedangkan larva yang mati setelah

terpapar temephos 1 ppm selama 24 jam larva tidak mengalami kerusakan yaitu membran peritrofik masih utuh, epitel masih utuh dan membran basalis juga masih utuh. Hal ini dikarenakan cara kerja dari temephos adalah menghambat enzim *cholinesterase*, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf, hal inilah yang mengakibatkan kematian (O'Brian,

1976) dan bukan pada *midgut* larva *Ae. aegypti*.

Pada larva yang mati setelah terpapar ekstrak daun mangrove *R. stylosa* selama 24 jam, kerusakan *midgut* pada konsentrasi 2500 ppm mengalami kerusakan yang ringan yaitu membran peritrofik sudah rusak, epitel masih utuh (inti dalam epitel), dan membran basalis masih utuh karena senyawa saponin yang terminum tidak terlalu banyak, meskipun termasuk kerusakan ringan namun sudah bisa menyebabkan kematian sebesar 43% larva dari 20 larva yang diuji. Hal ini kemungkinan larva mati dikarenakan faktor lain yang menyebabkan kematian yaitu seperti sifat dari kandungan senyawa metabolit sekunder lainnya yaitu flavonoid, alkaloid, dan tannin. Larva yang mati pada konsentrasi 3000 ppm dan 3500 ppm mengalami kerusakan sedang yaitu membran peritrofik sudah rusak, epitel mulai rusak, membran basalis sudah rusak. Sedangkan pada konsentrasi 4000 ppm, dan 4500 ppm, 5000 ppm, dan 5500 ppm mengalami kerusakan yang sama yaitu membran peritrofik sudah rusak, sel epitel sudah rusak dan terlihat rapuh, membran basalis sudah rusak. Tingkat kerusakan yang terjadi pada konsentrasi 4000 ppm, dan 4500 ppm, 5000 ppm, dan 5500 ppm yaitu sudah mengalami kerusakan yang berat (tabel 2). Tingkat kerusakan yang terjadi pada *midgut* larva *Ae. aegypti* tergantung dari konsentrasi ekstrak daun mangrove *R. stylosa*. Hal ini sesuai pernyataan Hsiao (1985) yang mengatakan bahwa reaksi serangga terhadap senyawa alelokimia tertentu tergantung pada dosisnya. Kerusakan *midgut* akibat senyawa metabolit sekunder (saponin) terjadi pada kisaran konsentrasi tertentu.

Berdasarkan tingkat kerusakan yang terjadi pada *midgut* larva *Ae. aegypti* tabel 2, terlihat bahwa dari 10 larva *Ae. aegypti* yang tidak diberi ekstrak daun mangrove *R. stylosa* semua larva (100%) tidak

mengalami kerusakan pada *midgut*, sedangkan yang mendapat paparan ekstrak daun mangrove *R. stylosa* menyebabkan *midgut* larva *Ae. aegypti* mengalami kerusakan dengan tingkat kerusakan ringan sampai kerusakan berat.

Berdasarkan hasil uji one way ANOVA diperoleh signifikansi sebesar 0,000, sehingga terdapat perbedaan yang sangat signifikan jumlah mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III akibat pemaparan dengan ekstrak etanol daun mangrove *R. stylosa* berbagai konsentrasi. Setelah itu dilakukan uji lanjutan untuk menentukan konsentrasi yang berbeda dengan analisis post hoc test (LSD). Hasil analisis post hoc test (LSD) menunjukkan perbedaan jumlah kematian larva pada konsentrasi 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, 5000 ppm, dan 5500 ppm berbeda. Namun konsentrasi 5000 ppm tidak berbeda dengan konsentrasi 5500 ppm.

Berdasarkan hasil uji statistik *Rank Spearman* diperoleh nilai signifikansi $p = 0,000 < \alpha = 0,05$. Hal ini berarti ada hubungan antara konsentrasi ekstrak daun mangrove *R. stylosa* dengan kerusakan *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III. Nilai koefisien korelasi yaitu sebesar 0,794. Nilai koefisien korelasi tersebut mendekati 1, hal ini menunjukkan bahwa adanya hubungan kuat antar konsentrasi ekstrak yang diberikan dengan kerusakan *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun mangrove *R. stylosa* yang diberikan maka kerusakan *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III semakin berat.

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ada perubahan histologi *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III yang ditunjukkan dengan adanya kerusakan yang terjadi pada membran peritropik, sel epitel, dan membran basalis setelah terpapar ekstrak daun mangrove *R. stylosa*.

4. KESIMPULAN

1. Hasil uji biolarvasida menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* memiliki efek sebagai biolarvasida yang ditunjukkan dari peningkatan jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati dengan persentase kematian larva pada konsentrasi 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, 5000 ppm dan 5500 ppm secara berturut-turut sebesar 43%, 53%, 62%, 73%, 85%, 94% dan 98%
2. Ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* menyebabkan mortalitas 50% (LC₅₀) larva *Ae. aegypti* instar III pada konsentrasasi 2885 ppm dan menyebabkan mortalitas 90% (LC₉₀) pada konsentrasasi 4857 ppm
3. Terdapat perubahan histologi saluran pencernaan *midgut* pada larva *Ae. aegypti* instar III setelah terpapar dengan ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora stylosa* maka semakin berat kerusakan yang terjadi pada *midgut* larva *Ae. aegypti* instar III.

4. UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Sesuai Dengan Kontrak Penelitian No. 1033/K8/KM/2017 Tahun anggaran 2018

5. REFERENSI

- Akyar, 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio Harveyi*. Skripsi. Makasar: Universitas Hasanuddin.
- Ali MS, Ravikumar S, Beula JM, Anurdha V, Yohanantha N, 2014. Insecticidal compounds from

Rhizophoraceae mangrove plants for the management of dengue vector *Aedes aegypti*. *J Vector Borne Dis* 51, pp. 106–114

- Amelia FP dan Suyatno, 2014. Aktivitas Biolarvasida Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *UNESA Journal of Chemistry* Vol. 3, No.3, September 2014. Hal. 74-79
- Aminah NS, Singgih H, Soetiyono P, Chaorul, 2001. *S. larak*, *D.metel*, dan *E. prostata* sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 131: 7 – 9.
- Ariyanti dan Tukiran, 2012. Biolarvasida dari tumbuhan bakau minyak (*Rhizophora apiculata*). *UNESA Journal of Chemistry*, Vol. 1 (1): 10-13.
- Cania, B dan Setyaningrum, E. 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung of University*, 2(4): 52-60.
- Clark TM, Flis BJ, and Rennold SK, 2004. pH tolerance and regulatory abilities of freshwater and euryhaline Aedine mosquitoes larvae. *Journal of Experimental Biology* 207: 2297-2304.
- Costa MS, Pinheiro DO, Serrao JE, Pereira MJB, 2012. Morphological Changes in the Midgut of *Aedes aegypti* Larvae Following Exposure to an *Annona coriacea* Extract. *Neotrop Entomol*.
- Darlian L, Imran G dan Fachruddin. 2011. Skrining Bioaktivitas Ekstrak Kulit Akar Bakau Merah (*Rhizophora apiculata* bl.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Koloni Bakteri *Streptococcus sp.* *J. Prog.Kim. Si.* 2011, 1 (2) : 73-82
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2012. Profil Kesehatan Indonesia 2012. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia

- Djati RAP, Santoso B, dan Satoto TBT, 2012. Hubungan faktor iklim dengan demam berdarah dengue di kabupaten Gunung Kidul tahun 2010. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 11(3): 230-239.
- Hairani, S. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Mudu (*Garcinia dulcis*) Sebagai Larvasida Nyamuk *Culex sp* dan *Aedes aegypti*. Skripsi Sarjana Kedokteran Hewan Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hendrawati ARE, 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* linn.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp lethality Test (BST). FK Universitas Diponegoro.
- Hostettmann K, dan Marston A, 2005. Saponins. *Chemistry and Pharmacology of Natural Products*. Cambridge University Press.
- Hsiao TH, 1985. Feeding Behavior. Pp. 471-505. In: G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Eds. *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford.
- Kardinan, A, 2004. Tanaman Pengusir dan pembasmi Nyamuk. Agro Media Pustaka, Jakarta, Hal. 1.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B, 2008. Buku ajar fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press, hlm 33-66, 150-154.
- Lestari M, Yanti A. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Metanol dan n-Heksan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn) pada Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti* Linn) *Protobiont*, 3(2), 247-51.
- Mansjoer A, 2001. Kapita selekta kedokteran, edisi III jilid 1. Media Acculapius, Jakarta.
- Minarni E, Armansyah T, Hanafiah M, 2013. Daya larvasida ekstrak etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) jack) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Medikal Veterinaria* 7(1): 27-29
- Nugraha, D.R. 2011. Ekstrak Kayu Jati (*Tectona grandis* L.f) sebagai Bio-Larvasida Jentik Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*). Skripsi. Bandung: IPB.
- Nugroho, A. D. 2011. Kematian Larva *Aedes aegypti* Setelah Pemberian Abate Dibandingkan dengan Pemberian Serbuk Serai. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* Vol. 7 No. 1:91-96.
- O'Brian RD, 1967. "Insecticides Action and Metabolism". Academic Press. New York and London.
- Pratama, Bangkit Ary., Astuti, Dwi., Ambarwati. 2009. *Pemanfaatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.) Sebagai Larvasida Alami*. *Jurnal Kesehatan*, ISSN Vol. 2 (2) : 115-124
- Robinson T, 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. 1995. Bandung : Penerbit ITB. Hal. 139-149.
- Setya AK dan Dewangga VS, 2017. Perubahan Histopatologi Usus Tengah Larva *A. Aegypti* L. Setelah Terpapar Ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda Citrifolia*). *Indonesian Journal On Medical Science: Volume 4 No 2, 2017. hal. 139-143*
- Shashi BM and Ashoke KN, 1991. Tripenoid Saponins Discovered Between 1987 and 1989, *Phytochemistry*, **30**: 5, 1357-1385.
- Sugiyono, 2007. Statistika untuk penelitian. CV. Alfabeta. Bandung
- Syahputra, E. 2001. Hutan Kalbar Sumber Pestisida Botani, Dulu, Kini, dan Kelak, *Makalah Falsafah sains* (PPs 702). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tarumingkeng R C, 1992. Insektisida: Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya.

Universitas Kristen Krida Wacana.
Jakarta.
Yunita EA, Suprpti NH, Hidayat JW,
2009. Pengaruh ekstrak daun teklan

(*Eupatorium riparium*) terhadap
mortalitas dan perkembangan larva
Aedes aegypti. *Jurnal Bioma* 11:11-17.