

EFEK EKSTRAK ETANOL KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)

**SEBAGAI BIOLARVASIDA PADA LARVA NYAMUK AEADES
AEGYPTI INSTAR III MELALUI KERUSAKAN MIDGUT**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Lois Theodora

155070101111100

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lois Theodora

NIM : 155070101111100

Program Studi : Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 1 Oktober 2018

Yang membuat pernyataan,



Lois Theodora

NIM. 155070101111100

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur pada Tuhan Yesus Kristus karena hanya karena berkat dan kasih karunia-Nya yang telah dicurahkan kepada penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Biolarvasida Pada Larva *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan *Midgut*” dengan baik. Dengan telah selesainya tugas akhir ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. **Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. **dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)**, selaku Ketua Jurusan Program Studi Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. **Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D**, selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, dan pendampingan selama penelitian dan pengerjaan tugas akhir.
4. **dr. Ruddi Hartono, Sp.An**, selaku dosen pembimbing II, atas bimbingan dan pendampingan selama pengerjaan tugas akhir.
5. **dr. Aurick Yudha Nagara, Sp.EM**, selaku dosen penguji tugas akhir yang banyak memberikan masukan kepada penulis.
6. **Mbak Heni** selaku analis Laboratorium Parasitologi yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.
7. Kedua orang tua yang sangat saya kasihi dan hormati, **Ricky Sanjaya dan Leny Sriwati**, yang tiada hentinya mendoakan, menuntun serta memberikan dukungan dan kesabaran kepada saya sejak kecil hingga saat ini, yang selalu percaya kepada saya serta memberikan dukungan, motivasi, dan kekuatan selama pengerjaan tugas akhir.

8. Kedua adik saya yang saya sayangi, **Kenny Theodore dan Revel**

Theodore, yang selalu memberikan dukungan dan keceriaan setiap harinya.

9. Teman-teman seperjuangan saya, kelas **PD-B 2015**, yang senantiasa

mengisi hari-hari perkuliahan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

10. Teman seperjuangan Tugas Akhir Biolarvasida pada Larva *Aedes aegypti*

Melalui Kerusakan *Midgut*, **Lazuardi Taniputra**.

11. Teman-teman “geng” baris dua, **Hadi, Becca, Andy, Beatrice, Sharon,**

Imerisa, yang selalu memberikan keceriaan di hari-hari perkuliahan serta dukungan penuh agar tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

12. Teman “kembaran” saya, **Hanna Melisa**, atas bantuan dan dukungannya

yang tiada henti saat pengerjaan skripsi maupun kesehariannya di Malang.

13. Sahabat-sahabat saya, **Kenny, Joan, Biancha, Steven, Felix**, yang selalu

ada dalam kondisi apapun, serta canda dan tawa yang dilakukan bersama.

14. Satu-satunya yang saya sayangi, **Reynold Alexander**, yang tiada henti

mendoakan, mendukung atas apapun yang saya lakukan, dan menjadi “*human diary*” serta pendamping yang selalu ada untuk saya kapanpun, dimanapun, dan dalam kondisi apapun.

15. Semua pihak yang turut serta membantu menyelesaikan tugas akhir ini,

yang namanya tidak dapat disebutkan satu – satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih kurang sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala kritik dan saran. Penulis berharap Tugas Akhir ini dapat bermanfaat, tidak hanya bagi penulis, namun juga bagi semua pembaca khususnya profesi di bidang kesehatan

Malang, Oktober 2018

Penulis

ABSTRAK

Theodora, Lois. 2018. **Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Biolarvasida pada Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan *Midgut***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Ruddi Hartono, Sp.An.

Indonesia memiliki insiden kematian yang tinggi terhadap penyakit Demam Berdarah Dengue. Penyebab DBD yaitu virus *Dengue* yang dibawa oleh vektor *Aedes aegypti*. Pengendalian vektor efektif menggunakan larvasida, tetapi larvasida sintetik seperti abate dapat menimbulkan resistensi sehingga memerlukan larvasida alami/biolarvasida sebagai pengganti abate. Kulit manggis mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang mampu membunuh larva *Aedes aegypti*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*. Sebanyak 500 larva digunakan sebagai sampel dan dibagi menjadi 5 kelompok dengan 4 kali pengulangan. Kelompok perlakuan tersebut yaitu kontrol negatif (air sumur), kontrol positif (abate 1%), ekstrak 0,5%, ekstrak 1%, dan ekstrak 2%. Kematian larva diamati dalam 24 jam. Kerusakan *midgut* larva diamati dengan mikroskop cahaya. Senyawa flavonoid, saponin, dan tanin terbukti terkandung dalam ekstrak berdasarkan uji fitokimia. *Larvicidal activity* ekstrak etanol kulit manggis pada konsentrasi 2% (tertinggi) sebesar 100% dan nilai LC100-nya yaitu 1,934%. Hasil pengamatan mikroskop cahaya menunjukkan adanya kerusakan *midgut* pada kelompok ekstrak dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% yang ditandai dengan terbentuknya vakuola-vakuola pada sitoplasma. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki pengaruh sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.

Kata kunci : *Garcinia mangostana* L., *Aedes aegypti*, instar III, *larvicidal activity*, *midgut*

ABSTRACT

Theodora, Lois. 2018. **The Effect of Mangosteen Peel Ethanol Extract as a Biolarvicide on Third Instar *Aedes aegypti* Larvae Through Midgut Damage**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Ruddi Hartono, Sp.An.

Indonesia has a high incidence of death against Dengue Hemorrhagic Fever. DHF is caused by *Dengue* virus that carried by *Aedes aegypti* as the vector. Controlling vectors by using larvicide is effective, but synthetic larvicides such as abate can cause a resistance, so that it requires natural larvicides/biolarvicides instead of abate. Mangosteen peel contains flavonoids, saponins, and tannins which are able to kill *Aedes aegypti* larvae. The purpose of this study was to determine the effect of mangosteen peel ethanol extract (*Garcinia mangostana* L.) as a biolarvicide on third instar *Aedes aegypti* larvae through midgut damage. 500 larvae were used as the samples and were divided into 5 groups with 4 repetitions. The groups were negative control (well water), positive control (abate 1%), extract 0.5%, extract 1%, and extract 2%. Larval mortality was observed in 24 hours. Midgut damage was observed by a light microscope. Mangosteen peel ethanol extract was proven to contain flavonoids, saponins, and tannins based on phytochemical test. Larvicidal activity of mangosteen peel ethanol extract with 2% of concentration (highest) was 100% and LC100 value was 1,934%. The observation of light microscope showed midgut damages in extract groups with concentration of 0,5%, 1%, and 2%, characterized by the formation of vacuoles in cytoplasm. This study concluded that the mangosteen peel ethanol extract has an effect as a biolarvicide on third instar *Aedes aegypti* larvae through midgut damage.

Keywords : *Garcinia mangostana* L., *Aedes aegypti*, third instar, larvicidal activity, midgut

DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
<i>Abstract</i>	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Demam Berdarah Dengue	5
2.1.1 Definisi Demam Berdarah Dengue	5
2.1.2 Epidemiologi Demam Berdarah Dengue	5

2.1.3 Etiologi Demam Berdarah Dengue.....	8
2.1.4 Patogenesis Demam Berdarah Dengue	9
2.1.5 Patofisiologi Demam Berdarah Dengue.....	10
2.1.6 Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue.....	11
2.1.7 Faktor Risiko Penularan Demam Berdarah Dengue	13
2.2 <i>Aedes aegypti</i>	14
2.2.1 Taksonomi	14
2.2.2 Morfologi	15
2.2.3 Siklus Hidup	19
2.2.4 Tempat Perkembangbiakan Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	20
2.2.5 Histologi <i>Midgut Aedes aegypti</i>	20
2.2.6 Pengendalian Nyamuk	22
2.3 Abate (<i>Temephos</i>)	24
2.3.1 Mekanisme Kerja Abate (<i>Temephos</i>).....	25
2.4 Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	26
2.4.1 Taksonomi	26
2.4.2 Morfologi	27
2.4.3 Kulit Manggis	28
2.5 Bahan Aktif dalam Kulit Manggis yang Memiliki <i>Larvicidal Activity</i>	29
2.5.1 Flavonoid	29
2.5.1 Saponin.....	29
2.5.1 Tanin	30
2.6 Larvasida	31
2.6.1 Biolarvasida	31

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN 32

3.1 Kerangka Konsep	32
---------------------------	----

3.2 Kerangka Deskripsi.....	33
3.3 Hipotesis Penelitian.....	34
BAB 4 METODE PENELITIAN	35
4.1 Rancangan Penelitian.....	35
4.2 Populasi dan Sampel.....	35
4.2.1 Populasi Penelitian.....	35
4.2.2 Sampel Penelitian.....	35
4.2.3 Jumlah Sampel.....	35
4.3 Variabel Penelitian.....	37
4.3.1 Variabel Bebas (Independen).....	37
4.3.2 Variabel Tergantung (Dependen).....	38
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	38
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	38
4.5.1 Alat-alat Penelitian.....	38
4.5.2 Bahan-bahan Penelitian.....	39
4.6 Definisi Operasional.....	39
4.7 Prosedur Penelitian.....	40
4.7.1 Ekstraksi Kulit Manggis.....	40
4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Kulit Manggis.....	40
4.7.3 Pembuatan Larutan Ekstrak dengan Berbagai Konsentrasi.....	42
4.7.4 Metode Uji Fitokimia.....	42
4.7.5 Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE).....	44
4.7.6 Penghitungan Jumlah Vakuola pada Sitoplasma Epitel <i>Midgut</i>	44
4.8 Metode Analisis Data.....	44
4.9 Alur Penelitian.....	45

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA 46

5.1 Hasil Uji Fitokimia 46

5.1.1 Uji Flavonoid 46

5.1.2 Uji Saponin 47

5.1.2 Uji Tanin 48

5.2 Data Kematian Larva 49

5.3 Hasil Perhitungan *Larvicidal activity* 50

5.4 Hasil Pengamatan Kerusakan *Midgut* dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE) 52

5.5 Analisis Data 55

5.5.1 Uji Distribusi Data 55

5.5.2 Uji Varian Data 55

5.5.3 Uji *Kruskal Wallis* 55

5.5.4 Uji *Post Hoc Mann-Whitney* 56

5.5.5 Uji Probit 58

BAB 6 PEMBAHASAN 60

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* 60

6.2 Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Kulit Manggis Sebagai Bioalrvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* 61

6.3 *Larvicidal Activity* Ekstrak Etanol Kulit Manggis pada Larva *Aedes aegypti* 62

6.4 Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis Terhadap Kerusakan *Midgut* dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE) 63

6.5 Hasil Analisis Data dan LC100 66

6.6 Keterbatasan Penelitian..... 69

BAB 7 PENUTUP..... 70

7.1 Kesimpulan 70

7.2 Saran..... 71

DAFTAR PUSTAKA..... 72

LAMPIRAN..... 77



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 Rata-rata jumlah kematian larva <i>Aedes aegypti</i> dalam 24 jam	49
Tabel 5.2 <i>Larvicidal activity</i> setelah 24 jam	50
Tabel 5.3 Rata-rata jumlah vakuola pada epitel <i>midgut</i>	53
Tabel 5.4 Hasil uji <i>post hoc Mann-Whitney</i> kematian larva	56
Tabel 5.5 Hasil uji <i>post hoc Mann-Whitney</i> jumlah vakuola	57
Tabel 5.6 Hasil uji probit	58



DAFTAR GAMBAR

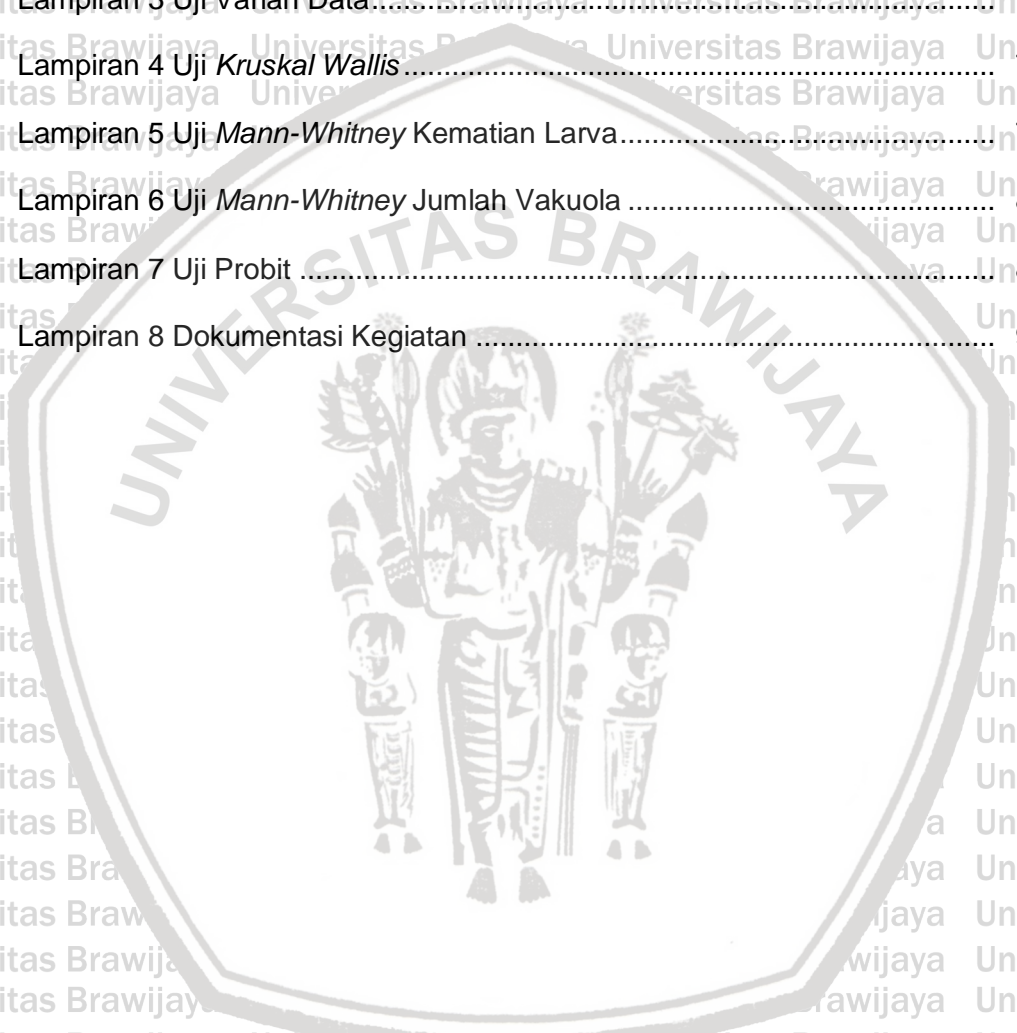
Halaman

Gambar 2.1 Angka kesakitan Demam Berdarah Dengue per 100.000 penduduk tahun 2010-2016.....	6
Gambar 2.2 Angka Kesakitan Demam Berdarah Dengue per 100.000 penduduk menurut provinsi tahun 2016.....	7
Gambar 2.3 Case <i>fatality rate</i> Demam Berdarah Dengue menurut provinsi tahun 2016.....	8
Gambar 2.4 Manifestasi klinis Demam Berdarah Dengue.....	12
Gambar 2.5 Telur <i>Aedes aegypti</i>	15
Gambar 2.6 Larva <i>Aedes aegypti</i>	17
Gambar 2.7 Pupa <i>Aedes aegypti</i>	17
Gambar 2.8 Nyamuk dewasa <i>Aedes aegypti</i>	18
Gambar 2.9 Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	19
Gambar 2.10 Histologi struktur larva <i>Aedes aegypti</i>	21
Gambar 2.11 Histologi <i>midgut</i> larva <i>Aedes aegypti</i>	22
Gambar 2.12 Struktur kimia <i>temephos</i>	25
Gambar 2.13 <i>Garcinia mangostana</i> L.	26
Gambar 5.1 Hasil uji flavonoid.....	47
Gambar 5.2 Hasil uji saponin.....	48
Gambar 5.3 Hasil uji tanin.....	48
Gambar 5.4 Jumlah kematian larva dalam 24 jam.....	49
Gambar 5.5 <i>Larvicidal activity</i> setelah 24 jam.....	51
Gambar 5.6 Hasil pengamatan <i>midgut</i> pada mikroskop cahaya dengan pengecatan HE.....	52
Gambar 5.7 Rata-rata jumlah vakuola pada epitel <i>midgut</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Data Hasil Penelitian	77
Lampiran 2 Uji Distribusi Data	77
Lampiran 3 Uji Varian Data	78
Lampiran 4 Uji <i>Kruskal Wallis</i>	78
Lampiran 5 Uji <i>Mann-Whitney</i> Kematian Larva	78
Lampiran 6 Uji <i>Mann-Whitney</i> Jumlah Vakuola	83
Lampiran 7 Uji Probit	88
Lampiran 8 Dokumentasi Kegiatan	90



DAFTAR SINGKATAN

ADE : *Antibody Dependent Enhancement*

ANOVA : *Analysis of Variance*

BS : *Bacillus sphaericus*

BTI : *Bacillus thuringiensis*

C3a : *Complement 3a*

C5a : *Complement 5a*

CFR : *Case Fatality Rate*

DBD : *Demam Berdarah Dengue*

DHF : *Dengue Hemorrhagic Fever*

DSS : *Dengue Shock Syndrome*

HE : *Hematoxylin dan Eosin*

TPA : *Tempat Penampungan Air*

TNF- α : *Tissue Necrotizing Factor- α*

IL-1 : *Interleukin-1*

IL-6 : *Interleukin-6*

IR : *Incidence Rate*

LC100 : *Lethal Concentration 100%*

PAF : *Platelet-activating Factor*

RES : *Reticuloendothelial System*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

WHO : *World Health Organization*

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*)

SEBAGAI BIOLARVASIDA PADA LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* INSTAR

III MELALUI KERUSAKAN MIDGUT

Oleh :

Lois Theodora

155070101111100

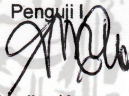
Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 22 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

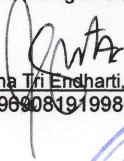
Penguji I



dr. Aurick Yudha Nagara, Sp.EM

NIP. 100784340

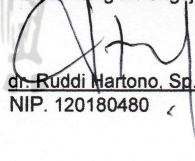
Pembimbing I/Penguji II,



Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D

NIP. 196908191998022001

Pembimbing II/Penguji III,



dr. Ruddy Martono, Sp.An

NIP. 120180480

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Theodora, Lois. 2018. **Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Biolarvasida pada Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan *Midgut***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Ruddi Hartono, Sp.An.

Indonesia memiliki insiden kematian yang tinggi terhadap penyakit Demam Berdarah Dengue. Penyebab DBD yaitu virus *Dengue* yang dibawa oleh vektor *Aedes aegypti*. Pengendalian vektor efektif menggunakan larvasida, tetapi larvasida sintetik seperti abate dapat menimbulkan resistensi sehingga memerlukan larvasida alami/biolarvasida sebagai pengganti abate. Kulit manggis mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang mampu membunuh larva *Aedes aegypti*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*. Sebanyak 500 larva digunakan sebagai sampel dan dibagi menjadi 5 kelompok dengan 4 kali pengulangan. Kelompok perlakuan tersebut yaitu kontrol negatif (air sumur), kontrol positif (abate 1%), ekstrak 0,5%, ekstrak 1%, dan ekstrak 2%. Kematian larva diamati dalam 24 jam. Kerusakan *midgut* larva diamati dengan mikroskop cahaya. Senyawa flavonoid, saponin, dan tanin terbukti terkandung dalam ekstrak berdasarkan uji fitokimia. *Larvicidal activity* ekstrak etanol kulit manggis pada konsentrasi 2% (tertinggi) sebesar 100% dan nilai LC100-nya yaitu 1,934%. Hasil pengamatan mikroskop cahaya menunjukkan adanya kerusakan *midgut* pada kelompok ekstrak dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% yang ditandai dengan terbentuknya vakuola-vakuola pada sitoplasma. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki pengaruh sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.

Kata kunci : *Garcinia mangostana* L., *Aedes aegypti*, instar III, *larvicidal activity*, *midgut*

ABSTRACT

Theodora, Lois. 2018. **The Effect of Mangosteen Peel Ethanol Extract as a Biolarvicide on Third Instar *Aedes aegypti* Larvae Through Midgut Damage**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Ruddi Hartono, Sp.An.

Indonesia has a high incidence of death against Dengue Hemorrhagic Fever. DHF is caused by *Dengue* virus that carried by *Aedes aegypti* as the vector. Controlling vectors by using larvicide is effective, but synthetic larvicides such as abate can cause a resistance, so that it requires natural larvicides/biolarvicides instead of abate. Mangosteen peel contains flavonoids, saponins, and tannins which are able to kill *Aedes aegypti* larvae. The purpose of this study was to determine the effect of mangosteen peel ethanol extract (*Garcinia mangostana* L.) as a biolarvicide on third instar *Aedes aegypti* larvae through midgut damage. 500 larvae were used as the samples and were divided into 5 groups with 4 repetitions. The groups were negative control (well water), positive control (abate 1%), extract 0.5%, extract 1%, and extract 2%. Larval mortality was observed in 24 hours. Midgut damage was observed by a light microscope. Mangosteen peel ethanol extract was proven to contain flavonoids, saponins, and tannins based on phytochemical test. Larvicidal activity of mangosteen peel ethanol extract with 2% of concentration (highest) was 100% and LC100 value was 1,934%. The observation of light microscope showed midgut damages in extract groups with concentration of 0,5%, 1%, and 2%, characterized by the formation of vacuoles in cytoplasm. This study concluded that the mangosteen peel ethanol extract has an effect as a biolarvicide on third instar *Aedes aegypti* larvae through midgut damage.

Keywords : *Garcinia mangostana* L., *Aedes aegypti*, third instar, larvicidal activity, midgut

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit oleh nyamuk *Aedes aegypti* yang mengandung virus golongan *Arthropod-borne*, biasa disebut virus *Dengue*, yang menggigit manusia (Kemenkes RI, 2016). Daerah tropis menjadi daerah epidemik penyakit DBD sehingga dijuluki *Tropic Infection* (Misnadiarly, 2009). Daerah tersebut antara lain Indonesia, Thailand, Sri Lanka, Myanmar, Timor Leste, dan lainnya. Pertama kali penyakit DBD ditemukan di Asia Tenggara yaitu di Filipina tahun 1953 (WHO, 2009).

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) menjadi salah satu masalah kesehatan yang utama di Indonesia. Demam Berdarah Dengue pertama kali terjadi di Indonesia pada tahun 1968 di Surabaya dan kemudian penyakit DBD menyebar ke seluruh wilayah Indonesia (Kemenkes RI, 2010). Dilaporkan jumlah kasus penyakit DBD di Indonesia tahun 2016 sebanyak 204.171 kasus dengan jumlah kematian sebanyak 1.598 orang. Hal ini dilaporkan bahwa jumlah kasus dan jumlah kematian DBD tahun 2016 meningkat dibandingkan jumlah kasus dan jumlah kematian DBD tahun 2015. (Kemenkes RI, 2017).

Vaksin dan obat guna mencegah DBD masih belum ada hingga saat ini (Noshirma dan Willa, 2016). Oleh sebab itu, upaya pemberantasan penyakit demam berdarah dengue (DBD) dengan pengendalian vektor dilakukan untuk mencegah perluasan penyakit dan meningkatkan kualitas hidup masyarakat (Malathi dan Vasugi, 2015). Pengendalian vektor dapat dilakukan dengan memutus rantai penularan. Penggunaan pestisida seperti larvasida dan insektisida mampu membunuh vektor secara efektif. Akan tetapi, larvasida sintetik bersifat racun bagi manusia dan hewan-hewan lain di sekitarnya serta

penggunaan secara kontinu dapat menyebabkan polusi lingkungan dan resistensi (Kardinan, 2011). Larvasida sebagai pengendali larva *Aedes* yang paling banyak digunakan yaitu abate (*temephos*). Abate telah digunakan sebagai larvasida di Indonesia sejak 1976. Namun penggunaan abate yang luas selama bertahun-tahun dapat menyebabkan resistensi. Beberapa negara seperti Brazil, Perancis, Thailand, Malaysia, dan Indonesia, telah dilaporkan terjadi resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap abate (Ridha dkk., 2011; Istiana dkk., 2012).

Larvasida hayati atau biolarvasida yang bersifat alami mampu berperan sebagai pengontrol vektor secara efektif. Beberapa keuntungan penggunaan tanaman sebagai larvasida hayati yaitu aman, lebih cepat terurai di alam, tidak menyebabkan resistensi, dan bersifat permanen (Rawani *et al.*, 2012). Pada umumnya, senyawa yang terkandung dalam tanaman, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid, serta steroid dan triterpenoid mampu bekerja sebagai racun pembunuh vektor. Tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin (Puspitasari dkk., 2013). Senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung pada kulit manggis mampu bekerja sebagai larvasida. Cara kerja larvasida dalam membunuh larva nyamuk bermacam-macam, salah satunya yaitu sebagai racun pencernaan (Dinata, 2008). Kematian larva akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebelumnya sudah ada yang meneliti melalui penelitian Alif (2017), tetapi mekanisme kematian larva melalui kerusakan *midgut*, yang merupakan bagian dari saluran pencernaan, belum ada yang meneliti. Terbukti bahwa flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung pada tanaman mampu membunuh larva *Aedes aegypti* sebagai racun pencernaan melalui kerusakan *midgut*. Kerusakan pada *midgut* ditandai dengan adanya kerusakan struktur histologi berupa kerusakan epitel, adanya

vakuolisasi yang terbentuk pada sitoplasma sel epitel disebabkan oleh gangguan osmoregulasi dan gangguan homeostasis ion (Procópio *et al.*, 2015).

Larva *Aedes aegypti* memiliki 4 tingkat (instar) sesuai pertumbuhan larva tersebut yakni instar I berukuran paling kecil, instar II berukuran 2,5 hingga 3,8 mm, instar III berukuran yang sedikit lebih besar dari larva instar II, dan instar IV berukuran paling besar yaitu 5-7 mm (Kemenkes RI, 2014). Larva yang digunakan untuk penelitian ini adalah larva instar III. Larva instar III dianggap dapat mewakili kondisi larva untuk diamati sebab struktur anatomi mulai dari kepala, dada, dan perut lengkap dan jelas. Selain itu, larva instar III aktif mencari makan serta ukurannya yang tidak terlalu kecil dapat memudahkan pengamatan (Jamaludin, 2013).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian terhadap ekstrak etanol kulit manggis sebagai biolarvasida yang bersifat alami memberantas larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut* sebagai pengganti larvasida sintesis untuk mencegah resistensi dan mengurangi polusi lingkungan.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki peran sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum :

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.

1.3.2 Tujuan Khusus :

1. Untuk membuktikan adanya senyawa aktif dari ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang berpotensi sebagai biolarvasida.
2. Untuk membuktikan *larvicidal activity* dari ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada larva *Aedes aegypti*.
3. Untuk mengetahui kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III secara histologi akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Sebagai sumber informasi mengenai mekanisme kerja atau patogenesis biolarvasida ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang dapat menyebabkan kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III.

1.4.2. Manfaat Praktis

Meningkatkan penggunaan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai larvasida alternatif yang alami atau biolarvasida untuk menurunkan angka penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Demam Berdarah Dengue (DBD)

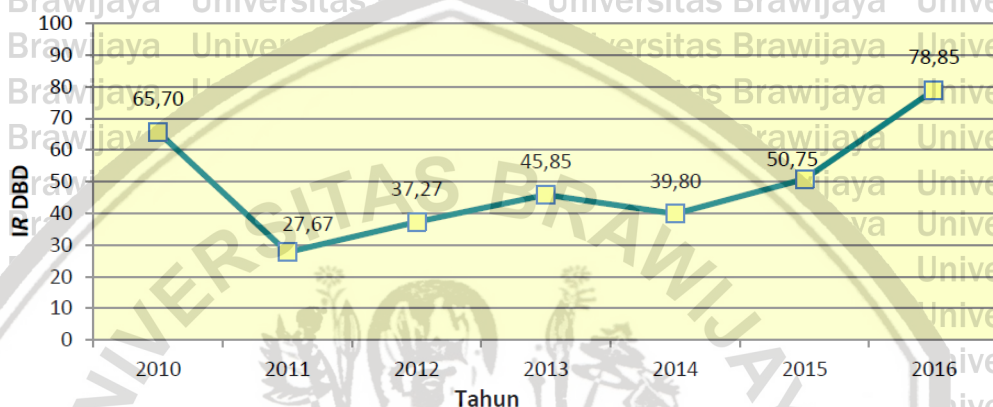
2.1.1 Definisi Demam Berdarah Dengue

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) adalah penyakit oleh virus *Dengue* yang menginfeksi manusia. Beberapa manifestasi klinis penyakit DBD yaitu demam, mual dan muntah, nyeri sendi, ruam dan disertai penurunan leukosit (leukopenia), pembesaran kelenjar limfa (limfadenopati), dan kelainan pendarahan. Pendarahan disebabkan karena kebocoran plasma yang dapat dibuktikan dengan adanya penurunan jumlah trombosit, peningkatan hematokrit, dan dapat disertai dengan penurunan kadar protein, albumin, dan natrium. Pada umumnya, infeksi virus *Dengue* memiliki 3 kategori, yaitu demam tanpa gejala, demam *dengue*, dan demam berdarah *dengue*. Demam Berdarah *Dengue*, disebut juga *dengue hemorrhagic fever*, memiliki klasifikasi lebih lanjut menjadi grade I, grade II, dan grade III serta grade IV sebagai sindrom renjatan *dengue*. Sindrom renjatan *dengue*, biasa disebut *Dengue Shock Syndrome/DSS*, adalah DBD ditambah dengan tanda-tanda syok (Suhendro dkk., 2009; WHO, 2009).

2.1.2 Epidemiologi Demam Berdarah Dengue

Tahun 2016 terdapat jumlah kasus DBD sebanyak 204.171 kasus dengan jumlah kematian sebanyak 1.598 orang. Jumlah kasus DBD dan jumlah kematian DBD tahun 2016 meningkat dibandingkan jumlah kasus dan jumlah kematian DBD tahun 2015. *Incidence Rate (IR)* atau persentase jumlah penduduk yang terjangkit penyakit DBD pada tahun

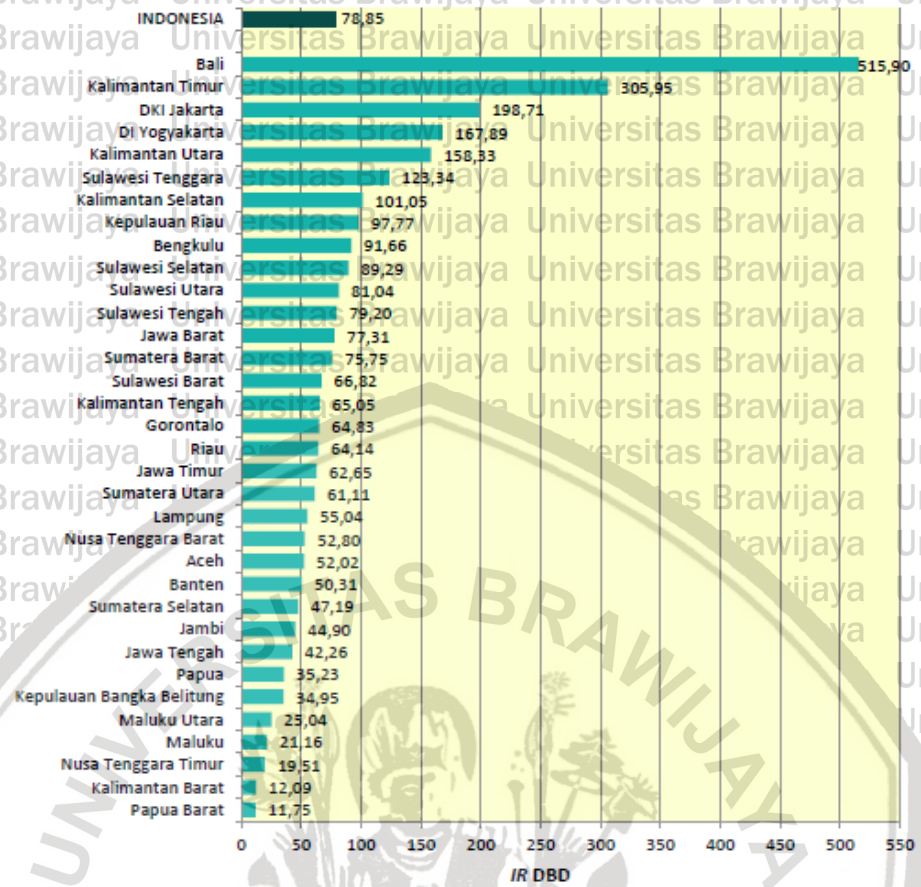
2016 lebih tinggi dibanding tahun 2015, yaitu semula 50,75 menjadi 78,85 per 100.000 penduduk. Namun, *Case Fatality Rate (CFR)* atau persentase jumlah penduduk yang meninggal akibat terjangkit penyakit DBD mengalami penurunan dari 0,83% pada tahun 2015 menjadi 0,78% pada tahun 2016. Tren angka kesakitan DBD tahun 2010-2016 adalah sebagai berikut (Kemenkes RI, 2017).



Gambar 2.1 Angka Kesakitan Demam Berdarah Dengue per 100.000 Penduduk Tahun 2010-2016 (Kemenkes RI, 2017)

Keterangan: Pada tahun 2010, angka kesakitan DBD dengan jumlah 65,70 per 100.000 penduduk. Kemudian pada tahun 2011 mengalami penurunan, tetapi semakin meningkat hingga tahun 2013 dan kembali menurun pada tahun 2014. Pada tahun 2015 didapatkan angka kesakitan 50,75 per 100.000 penduduk dan terdapat terlihat adanya peningkatan pada tahun 2016 dengan angka kesakitan 78,85 per 100.000 penduduk.

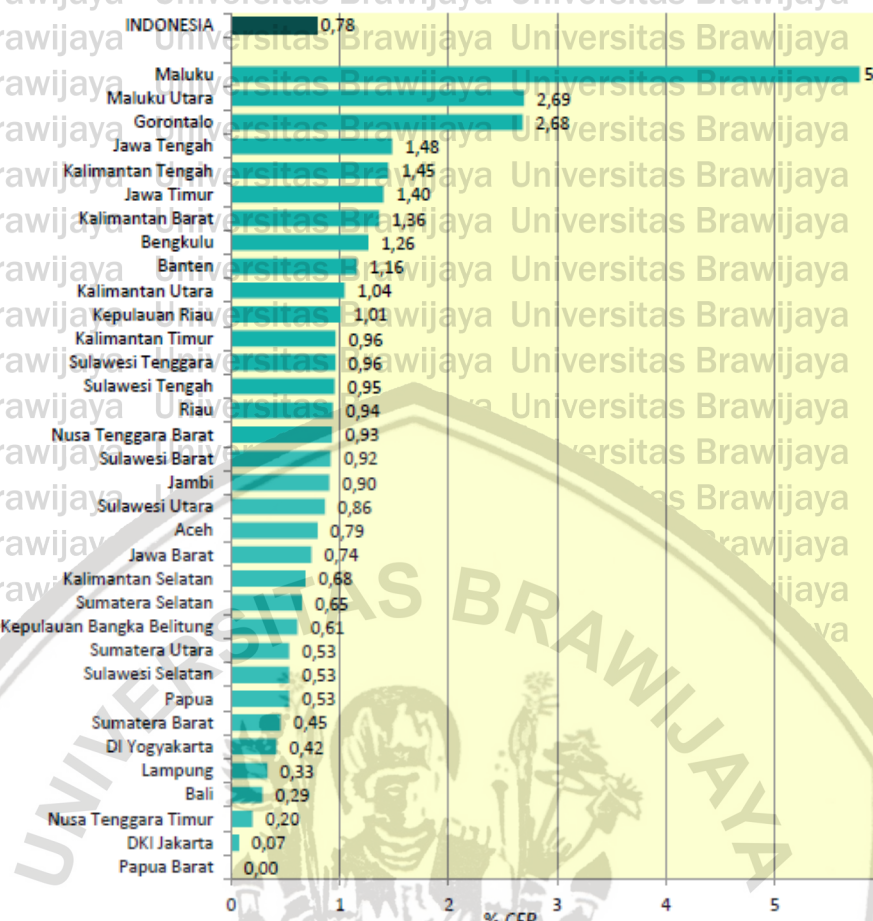
Pada tahun 2016 terdapat 10 provinsi dengan *incidence rate* yang kurang dari 49 per 100.000 penduduk. Provinsi dengan *incidence rate* DBD tertinggi yaitu Bali sebesar 515,90 per 100.000 penduduk, Kalimantan Timur sebesar 305,95 per 100.000 penduduk, dan DKI Jakarta sebesar 198,71 per 100.000 penduduk. *Incidence rate* pada tahun 2016 meningkat cukup drastis dibandingkan *incidence rate* pada tahun 2015 sehingga butuh perhatian khusus terkait penanganan dan pencegahan DBD.



Gambar 2.2 Angka Kesakitan Demam Berdarah Dengue per 100.000 Penduduk Menurut Provinsi Tahun 2016 (Kemenkes RI, 2017)

Keterangan: *Incidence Rate* DBD pada Tahun 2016 di Indonesia mencakup angka 78,85 per 100.000 penduduk. Provinsi dengan angka kesakitan DBD tertinggi yaitu Bali sebesar 515,90 per 100.000 penduduk, Kalimantan Timur sebesar 305,95 per 100.000 penduduk, dan DKI Jakarta sebesar 198,71 per 100.000 penduduk.

Jika persentase jumlah penduduk yang meninggal (*Case Fatality Rate*) akibat terkena penyakit DBD lebih dari 1%, maka dikategorikan tinggi. Pada tahun 2016 terdapat 11 provinsi dengan angka *CFR* yang tinggi, dimana 3 provinsi tertinggi diantaranya yaitu Maluku (5,79%), Maluku Utara (2,69%), dan Gorontalo (2,68%) (Kemenkes RI, 2017).



Gambar 2.3 Case Fatality Rate Demam Berdarah Dengue Menurut Provinsi Tahun 2016 (Kemenkes RI, 2017)

Keterangan: Kematian CFR akibat DBD pada tahun 2016 adalah 0,78%. Tiga provinsi dengan angka CFR tertinggi diantaranya yaitu Maluku (5,79%), Maluku Utara (2,69%), dan Gorontalo (2,68%).

2.1.3 Etiologi Demam Berdarah Dengue

Penyebab penyakit *Dengue* adalah virus golongan *Arthropod-borne*, familinya yaitu *Flaviviridae*, dan genusnya yaitu *Flavivirus*

(Kemenkes RI, 2016). Virus *dengue* (DEN) merupakan virus RNA yang *single-stranded*, bentuknya spheris/bulat, dan ukurannya kecil dengan diameter 50 nm. Virionnya berupa nukleokapsid berbentuk kubus simetris dan terbungkus oleh suatu *envelope* lipoprotein. Serotipe virus terdiri atas 4 jenis, yaitu DEN-1, DEN-2, dan DEN-3, serta DEN-4. Dari keempat serotipe virus, yang sering berkaitan dengan kasus DBD berat yaitu

serotipe "Asian" DEN-2 dan DEN-3 (WHO, 2009). Di Indonesia terdapat keseluruhan empat serotipe virus dengan serotipe DENV-3 yang distribusinya paling luas dan kemudian disusul oleh DENV-2, DENV-1, dan DENV-4 (Kemenkes RI, 2011).

Penularan virus *dengue* terjadi melalui gigitan nyamuk dewasa *Aedes aegypti* betina yang telah terinfeksi virus *dengue*. Nyamuk *Aedes aegypti* betina tersebut kemudian menggigit manusia sehingga virus *dengue* mampu ditransferkan ke manusia (WHO, 2009). Nyamuk *Aedes* merupakan nyamuk pemukiman. Habitat perkembangbiakannya berada di tempat penampungan air yang berada di permukiman dengan air yang relatif jernih. Tempat-tempat penampungan air yang sering dijumpai adanya perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* secara aktif seperti bak mandi dan ember, kaleng bekas, vas bunga, dan tempat minum burung, serta tempat penampungan air lainnya yang berada di dalam rumah. Sifat nyamuk *Aedes* yang antropofilik menyebabkan nyamuk mengigit dan menghisap darah manusia (Kemenkes RI, 2010).

2.1.4 Patogenesis Demam Berdarah Dengue

Patogenesis terjadinya DBD sebenarnya masih diperdebatkan. Teori yang banyak dianut adalah hipotesis infeksi sekunder (*secondary heterologous infection theory*) atau teori *antibody dependent enhancement* (ADE). Hipotesis infeksi sekunder menyatakan bahwa apabila seseorang terinfeksi virus *dengue* untuk yang kedua kalinya dengan serotipe berbeda, akan terjadi reaksi anamnestik dari antibodi yang telah terbentuk saat infeksi sebelumnya. Ikatan kompleks antigen-antibodi ini akan mengaktifasi makrofag dan kemudian virus bereplikasi

di dalam makrofag. Teori ADE menyatakan bahwa timbulnya antibodi justru akan mempercepat replikasi virus pada makrofag (Rena dkk., 2009)

2.1.5 Patofisiologi Demam Berdarah Dengue

Patofisiologi DBD terutama ditandai dengan adanya pendarahan akibat perubahan hemostasis tubuh. Hal ini melibatkan 3 faktor yang merupakan perubahan vaskuler, penurunan trombosit, dan kelainan koagulasi. Perubahan vaskuler disebabkan oleh makrofag yang teraktivasi akibat adanya mediator *pro-inflammatory* seperti histamin, TNF- α , IL-1, IL-6, dan *platelet-activating factor* (PAF) serta komplemen C3a dan C5a yang teraktivasi menyebabkan celah sel-sel pembuluh darah atau endotel melebar dan permeabilitas kapiler meningkat. Meningkatnya permeabilitas kapiler menyebabkan cairan dari intravaskuler keluar ke extravaskuler (ekstravasasi) yang ditandai dengan adanya kebocoran plasma seperti hipoproteinemia, asites, efusi pleura, dan syok hipovolemik. Penurunan trombosit (trombositopenia) disebabkan oleh trombosit yang teragregasi akibat dari perlekatan kompleks antigen-antibodi pada trombosit. Terlekatnya kompleks antigen-antibodi pada trombosit akan memicu pengeluaran adenosine difosfat (ADP) sehingga trombosit yang satu akan melekat dengan trombosit lainnya dan membentuk gumpalan yang disebut trombus. Trombus yang telah terbentuk akan dihancurkan oleh sistem retikuloendotelial (RES) sehingga jumlah trombosit akan menurun. Agregasi trombosit juga menyebabkan fungsi trombosit menjadi terganggu. Fungsi trombosit yang terganggu menyebabkan kelainan koagulasi karena teraktivasinya faktor XII (Hageman) yang kemudian membuat sistem fibrinolisis menjadi aktif sehingga plasminogen akan teraktivasi menjadi plasmin. Plasmin bersifat

proteolitik sehingga terjadi degradasi fibrin polimer menjadi D-dimer.

Fibrin yang telah terdegradasi mampu bekerja sebagai antikoagulan dimana akan memicu pendarahan. Dapat diketahui bahwa aktivasi faktor

XII yang berkepanjangan mampu memperberat perdarahan yang terjadi pada penderita DBD. Selain itu, faktor XII juga dapat mengaktifkan

prekalikrein menjadi bentuk aktifnya yaitu kalikrein. Kalikrein juga memiliki

peran sebagai enzim proteolitik. Kalikrein akan mengubah kinin menjadi

bradikinin. Bradikinin merupakan mediator *pro-inflammatory* sehingga sel-

sel pembuluh darah melebar dan permeabilitas kapiler meningkat (Rena

dkk., 2009; Kemenkes RI, 2010).

2.1.6 Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue

Manifestasi klinis penderita DBD terdiri atas 3 fase yaitu fase febris, fase kritis dan fase pemulihan.

a. Fase febris

Pada fase febris terjadi demam mendadak tinggi selama 2 – 7 hari disertai ruam kemerahan pada muka dan kulit, nyeri seluruh tubuh, nyeri sendi dan nyeri otot, serta sakit kepala. Pada beberapa kasus ditemukan nyeri tenggorok, faringitis dan konjungtivitis, anoreksia, mual dan muntah.

Pada fase ini dapat pula ditemukan tanda perdarahan seperti petekie dan perdarahan mukosa (WHO, 2009).

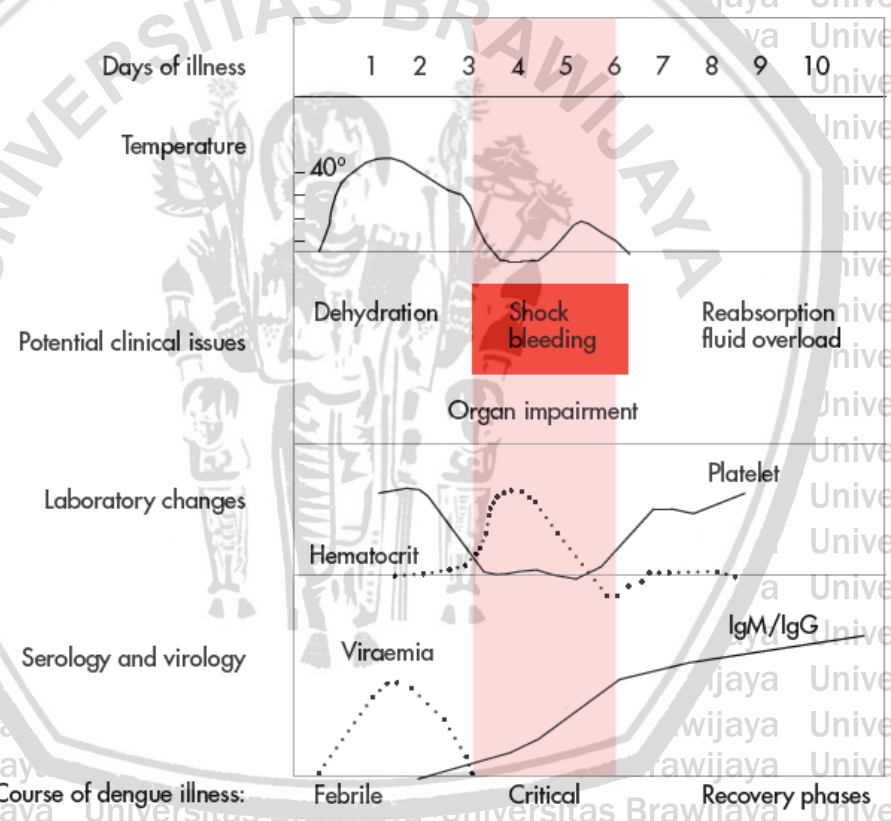
b. Fase Kritis

Fase kritis terjadi pada hari ke 3 – 7 sakit dan ditandai dengan penurunan suhu tubuh disertai dengan peningkatan permeabilitas kapiler dan kebocoran plasma yang berlangsung selama 24 – 48 jam. Kebocoran plasma akan didahului oleh penurunan leukosit dan penurunan trombosit.

Pada beberapa pasien, saat fase kritis ini bisa juga terjadi syok (WHO, 2009).

c. Fase Pemulihan

Fase pemulihan terjadi bila fase kritis terlewati. Terjadi pengembalian cairan dari ekstrasvaskuler menuju ke intravaskuler secara perlahan pada 48 – 72 jam setelahnya. Keadaan umum penderita membaik, hemodinamik stabil, dan nafsu makan serta diuresis membaik. Hematokrit mulai kembali normal, jumlah leukosit akan meningkat, dan kemudian disusul dengan peningkatan jumlah trombosit.



Gambar 2.4 Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue (WHO, 2009)

Keterangan: Manifestasi klinis DBD terdiri atas 3 fase yaitu fase febris (*febrile phase*), fase kritis (*critical phase*), dan fase pemulihan (*recovery phase*)

2.1.7 Faktor Risiko Penularan Demam Berdarah Dengue

Faktor risiko penularan DBD dipengaruhi oleh 3 faktor, yaitu:

a. Agen

Agen merupakan penyebab penyakit. Agen penyakit DBD adalah virus *dengue*. Nyamuk *Aedes aegypti* berperan sebagai vektor penyakit DBD. Virus *dengue* mampu bermultiplikasi pada kelenjar ludah nyamuk *Aedes aegypti*. Pencegahan terhadap virus *dengue* dapat dilakukan dengan cara mengontrol populasi nyamuk *Aedes* sebagai vektornya.

Jumlah kepadatan vektor *Aedes* di suatu daerah digunakan sebagai tolak ukur besarnya potensi penyebaran penyakit DBD (Sidiek, 2012).

b. Inang (*Host*)

Inang atau *host* penyakit DBD adalah manusia yang terkena gigitan nyamuk *Aedes aegypti* betina yang membawa virus *dengue* di kelenjar ludahnya. Derajat keparahan penyakit DBD yang terjadi pada masing-masing orang akan berbeda. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor risiko yang ada pada *host* itu sendiri. Kerentanan terhadap penyakit DBD dipengaruhi oleh imunitas dan status gizi. Seseorang dengan sistem imun yang optimal dan status gizi yang baik akan lebih tidak berisiko terjangkit penyakit DBD. Anak-anak memiliki risiko yang lebih besar untuk mengalami *Dengue Shock Syndrome* karena kemampuan mengompensasi kebocoran kapiler masih kurang baik (Kemenkes RI, 2010; Meisyaroh dkk., 2013).

c. Lingkungan

Perubahan iklim dapat memperpanjang masa penularan penyakit yang ditularkan melalui vektor. Curah hujan berkontribusi pada penyebaran penyakit DBD. Hujan yang tidak sampai menimbulkan banjir, tetapi menyebabkan air dapat menggenang di suatu wadah (media) yang

menjadi tempat perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* menjadi salah satu faktor peningkatan penyebaran penyakit DBD. Beberapa media perkembangbiakan nyamuk seperti pepohonan, cekungan di pagar bambu, kaleng bekas, ban bekas, atap atau talang rumah. Tersedianya air dalam media akan menyebabkan telur nyamuk menetas dan setelah 10 – 12 hari akan berubah menjadi nyamuk. Selain perubahan iklim, beberapa faktor risiko lain yang mungkin mempengaruhi penularan DBD adalah kepadatan penduduk, urbanisasi, mobilitas penduduk, dan transportasi (Kemenkes RI, 2010).

2.2 *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyakit demam berdarah (DBD), chikungunya, dan *yellow fever* (Procópio *et al.*, 2015).

2.2.1 Taksonomi

Klasifikasi dari nyamuk *Aedes aegypti* sebagai berikut :

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Arthropoda
Subphylum	:	Uniramia
Kelas	:	Insekta
Ordo	:	Diptera
Subordo	:	Nematocera
Familia	:	Culicidae
Sub family	:	Culicinae
Tribus	:	Culicini
Genus	:	<i>Aedes</i>
Species	:	<i>Aedes aegypti</i>

(Jamaludin, 2013)

2.2.2 Morfologi

a. Stadium Telur

Telur *Aedes aegypti* berwarna hitam, berbentuk oval, kulit tampak garis-garis yang menyerupai sarang lebah, panjang 0,8 mm, berat 0,0010-1,015 mg. Telur *Aedes aegypti* dapat bertahan dalam waktu yang lama pada keadaan kering (Depkes RI, 2007). Telur yang tidak memiliki alat pelampung ini diletakkan satu per satu pada permukaan air.

Berdasarkan temperatur, telur diletakkan pada suhu sekitar 20° sampai 30°C. Pada suhu 30°C, telur akan menetas setelah 1 sampai 3 hari dan pada suhu 16°C akan menetas dalam waktu 7 hari. Telur nyamuk *Aedes aegypti* sangat tahan terhadap kekeringan (Sudarmaja dan Mardihusodo, 2009).



Gambar 2.5 Telur *Aedes Aegypti* (Jamaludin, 2013)

Keterangan: (a) telur *Aedes aegypti* berbentuk menyerupai bola *rugby* yang diletakkan sendiri-sendiri tidak bergerombol

b. Stadium Larva

Larva nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai ciri khas memiliki tabung udara (siphon) yang pendek, besar, dan berwarna hitam. Tubuh larva *Aedes aegypti* yang langsing dapat membuatnya bergerak dengan lincah

dan aktif dalam air. Gerakan yang berulang-ulang dari bawah ke atas permukaan air dan kemudian turun kembali ke bawah dilakukan sebagai upaya larva untuk bernafas. Pada saat istirahat akan membentuk posisi dengan sudut tegak lurus dengan permukaan air. Larva akan berubah menjadi pupa setelah 6-8 hari (Anggareni, 2010). Selama perkembangannya, larva *Aedes aegypti* akan mengalami 4 kali pergantian kulit sesuai dengan pertumbuhan larva tersebut, yaitu :

1. Larva instar I berukuran paling kecil dengan panjang 1-2 mm, tubuh transparan, siphon masih transparan, duri-duri (spinae) pada dada belum jelas, dan akan tumbuh menjadi larva instar II dalam 1 hari.
2. Larva instar II memiliki panjang 2,5 – 3,9 mm, siphon agak kecoklatan, duri-duri pada dada masih belum jelas, dan akan tumbuh menjadi larva instar III selama 1-2 hari.
3. Larva instar III berukuran panjang 4-5 mm, siphon sudah berwarna coklat, duri-duri pada dada sudah mulai terlihat jelas, dan akan tumbuh menjadi larva instar IV selama 2 hari.
4. Larva instar IV berukuran 5-7 mm sudah terlihat sepasang mata dan antena dengan warna kepala gelap telah lengkap struktur anatominya dan tubuh dapat dibagi menjadi bagian kepala (cephal), dada (thorax), dan perut (abdomen), yang akan tumbuh menjadi pupa dalam 2-3 hari.

Umur rata-rata pertumbuhan larva hingga pupa berkisar 5-8 hari. Posisi istirahat pada larva ini adalah membentuk sudut 45 derajat terhadap bidang permukaan air (Depkes RI, 2007; Arsin, 2013).

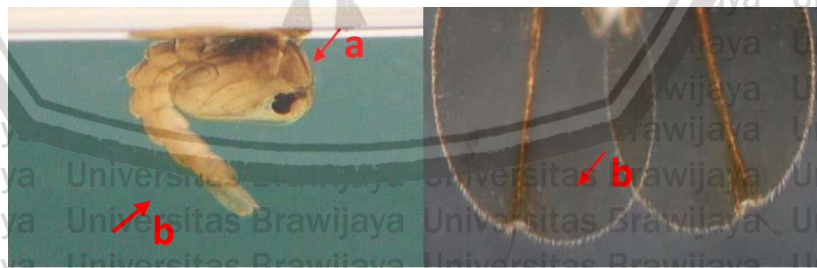


Gambar 2.6 Larva *Aedes aegypti* (Jamaludin, 2013)

Keterangan: larva *Aedes aegypti* (a), kepala (b), thorax (c), abdomen (d), siphon (e)

c. Pupa

Pada stadium pupa tubuh terdiri dari dua bagian, yaitu bagian kepala dada (*cephalothorax*) dengan ukuran yang lebih besar serta bagian abdomen. Pupa nyamuk *Aedes aegypti* memiliki bentuk tubuh yang bengkak yang menyerupai tanda baca 'koma'. Pupa tidak memerlukan makan dan akan berubah menjadi dewasa dalam 2 hari. Dalam pertumbuhannya, akan terjadi proses pembentukan sayap, kaki dan alat kelamin. Tahap pupa umumnya berlangsung 2-4 hari yang nantinya akan naik ke permukaan dan sejajar dengan permukaan air untuk persiapan munculnya nyamuk dewasa (Depkes RI, 2007; Achmadi, 2011).



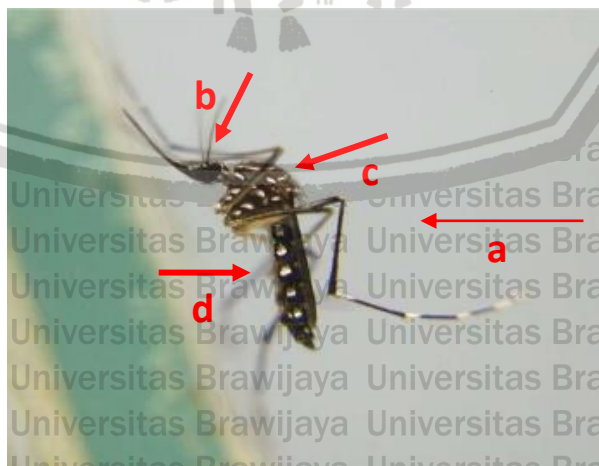
Gambar 2.7 Pupa *Aedes aegypti* (Jamaludin, 2013)

Keterangan: pupa *Aedes aegypti* (a), paddle/dayung pupa *Aedes aegypti* (b)

d. Nyamuk Dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil, memiliki kaki panjang dengan sepasang sayap. Pada dasarnya, nyamuk betina berukuran lebih besar daripada nyamuk jantan (Lestari, 2010).

Tubuh nyamuk dewasa terdiri dari 3 bagian, yaitu kepala (caput), dada (thorax) dan perut (abdomen). Badan nyamuk berwarna hitam dan memiliki garis-garis putih sehingga ciri khas tersebut tampak jelas pada bagian kaki nyamuk *Aedes aegypti*. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata, sepasang antena yang berfungsi sebagai organ peraba dan pembau, dan sepasang palpi. Nyamuk betina memiliki antena yang berbulu pendek dan berjumlah sedikit (tipe pilose) sehingga dapat dibedakan dengan nyamuk jantan yang memiliki antena berbulu panjang dan lebat (tipe plumose). Thorax terdiri dari 3 ruas, yaitu prothorax, mesothorax, dan metathorax. Pada bagian thorax terdapat 3 pasang kaki dan pada ruas ke 2 (mesothorax) terdapat sepasang sayap. Abdomen terdiri dari 8 ruas. Pada ujung atau ruas terakhir terdapat alat kopulasi berupa cerci pada nyamuk betina dan hypogeuum pada nyamuk jantan (Depkes RI, 2007).



Gambar 2.8 Nyamuk dewasa *Aedes aegypti* (Jamaludin, 2013)

Keterangan: nyamuk *Aedes aegypti* (a), kepala (b), thorax (c), abdomen (d)

2.2.3 Siklus Hidup

Nyamuk *Aedes aegypti* dapat berkembang melalui metamorfosis sempurna. Metamorfosis nyamuk *Aedes aegypti* meliputi telur, larva, pupa, dan nyamuk dewasa. Telur, larva, dan pupa dapat ditemukan di air, sedangkan pada nyamuk dewasa ditemukan aktif terbang di udara.

Dalam satu siklus hidup, nyamuk memerlukan waktu sekitar 9-12 hari mulai dari stadium telur hingga stadium dewasa. Nyamuk *Aedes aegypti* betina meletakkan telurnya satu per satu secara individual dan setiap hari dihasilkan rata-rata 100 butir telur. Telur akan menetas menjadi larva dalam waktu kurang lebih 2 hari. Terdapat empat tahapan perkembangan larva yang disebut instar. Perkembangan dari instar satu hingga instar empat membutuhkan waktu 5-8 hari. Setelah mencapai instar keempat, larva akan berubah menjadi pupa dimana larva memasuki masa inaktif atau tidur. Pupa akan bertahan selama 2 hari dan akan menjadi nyamuk dewasa. (Jamaludin, 2013).



Gambar 2.9 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* (Mulyanti, 2012)

Keterangan: Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* dimulai dari nyamuk dewasa betina yang bertelur di permukaan air, kemudian menetas menjadi larva dan berkembang menjadi pupa. Pupa akan berkembang menjadi nyamuk dewasa *Aedes aegypti* yang dapat terbang dan menggigit manusia.

2.2.4 Tempat Perkembangbiakan Nyamuk *Aedes aegypti*

Habitat perkembangbiakan *Aedes aegypti* adalah tempat-tempat yang dapat menampung air atau biasa disebut tempat penampungan air

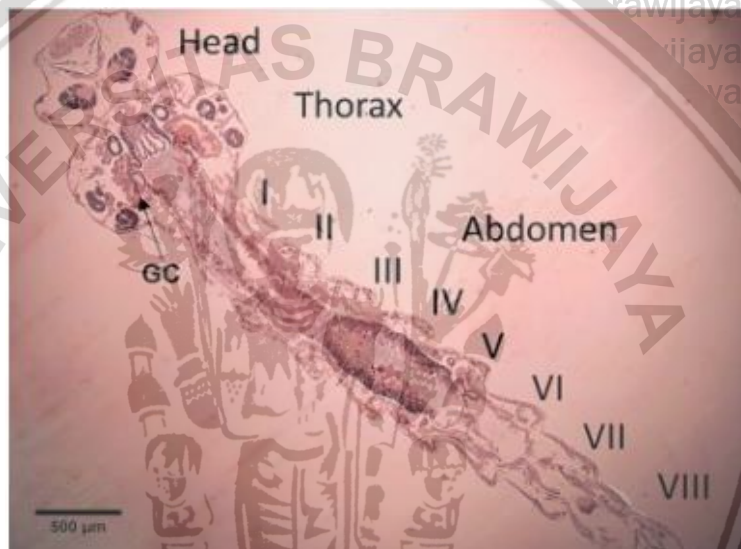
(TPA). Tempat perkembangbiakan tersebut beberapa jenis antara lain :

- a. Tempat penampungan air (TPA) untuk keperluan sehari-hari atau barang-barang lain yang memungkinkan air tergenang dan tidak beralaskan tanah. Beberapa contoh dari TPA untuk keperluan sehari-hari seperti drum, bak mandi, bak WC, dan ember.
- b. Tempat penampungan air (TPA) yang bukan untuk keperluan sehari-hari yang juga bisa menjadi tempat perkembangbiakan nyamuk seperti tempat minum burung, vas bunga, pot tanaman air, kaleng bekas dan ban bekas, botol, dan lain-lain.
- c. Tempat penampungan air (TPA) alami, beberapa diantaranya yaitu lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa, potongan bambu, dan lain-lain (Depkes RI, 2007; Kemenkes RI, 2011).

2.2.5 Histologi *Midgut Aedes aegypti*

Pada umumnya, larva nyamuk *Aedes aegypti* tersusun atas kepala, thorax, abdomen. Pada bagian kepala, terdapat sepasang mata, sepasang antena, dan mulut yang dilengkapi dengan probiosis. Thorax dibagi menjadi 3 bagian yaitu prothorax, mesothorax, dan metathorax. Abdomen larva berbentuk memanjang dan silindris terdiri dari 8 segmen dengan segmen ke-8 terdapat *comb spine*. Larva memiliki siphon untuk bernapas yang terletak pada bagian akhir abdomen dengan ujungnya terdapat spirakel. Saluran pencernaan larva berada di dalam abdomen. Saluran pencernaan tersebut dibagi menjadi 3 bagian yaitu *foregut*,

midgut, *hindgut*. *Foregut* merupakan bagian anterior dari usus yang dibagi menjadi faring, esofagus, dan crop. *Midgut* merupakan bagian tengah dari usus yang dibagi menjadi *midgut* anterior, *midgut* sentral, dan *midgut* posterior. Sedangkan *hindgut* merupakan bagian posterior dari saluran pencernaan yang dibagi menjadi ileum, colon, dan rectum. *Midgut* anterior dimulai dengan gastric caecum pada segmen pertama abdomen, *midgut* sentral/media berada pada segmen ke-2 dan ke-3, sedangkan *midgut* posterior berada pada segmen abdomen ke-4 dan ke-5.

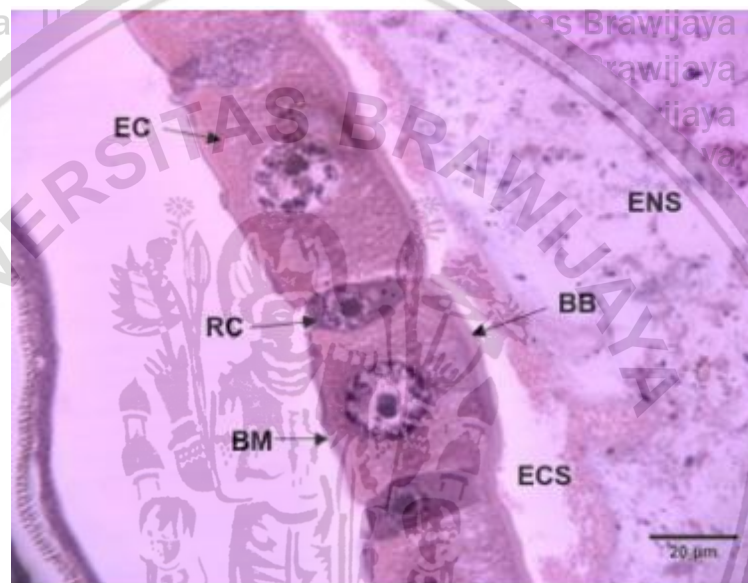


Gambar 2.10 Histologi Struktur Larva *Aedes aegypti* (de Lemos et al., 2018)

Keterangan: kepala (*head*), dada (*thorax*), perut (*abdomen*), *midgut* anterior terdiri atas gastric caecum (GC) di segmen I, *midgut* media berada di segmen II dan III, *midgut* posterior berada di segmen IV dan V, *hindgut* segmen VI, VII, dan VIII

Epitel pada saluran pencernaan larva adalah epitel selapis kolumnar dengan mikrovili. Mikrovili usus terdapat pada *brush border* yang berfungsi untuk membantu penyerapan makanan. Sel epitel pada usus tidak mengalami mitosis, sehingga apabila sel epitel rusak akan diganti dengan sel regeneratif yang berdiferensiasi menjadi sel epitel usus. Enzim-enzim pencernaan yang disekresikan berasal dari sel epitel usus itu sendiri dikarenakan nyamuk tidak memiliki sel khusus untuk

mensekresi enzim pencernaan. Motilitas usus dipengaruhi oleh otot enterik pada usus larva *Aedes aegypti* yang memiliki 2 macam, yaitu otot sirkuler dan otot longitudinal. *Brush border* merupakan selain untuk menyerap makanan, juga merupakan tempat untuk insektisida bisa melakukan aksinya dalam membunuh larva. Toksin dari insektisida akan berikatan dengan reseptor protein spesifik di membran *brush border* yang ada di epitel kolumnar usus (Procópio *et al.*, 2015; de Lemos *et al.*, 2018).



Gambar 2.11 Histologi Midgut Larva *Aedes aegypti* (de Lemos *et al.*, 2018)

Keterangan: epitel selapis kolumnar (EC), *brush border* (BB), *ectoperitrophic space* (ECS), *endoperitrophic space* (ENS), sel regeneratif (RC), *basal membrane* (BM)

2.2.6 Pengendalian Nyamuk

Menurut Sumantri (2010), pengendalian vektor bertujuan untuk menurunkan atau menekan populasi vektor sehingga berakhir pada tahap yang tidak membahayakan kesehatan manusia. Pada dasarnya, pengendalian nyamuk dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

a. Pengendalian nyamuk secara mekanis

Pengendalian vektor secara mekanis meliputi pengelolaan lingkungan yang bertujuan untuk membuat habitat perkembangbiakan

nyamuk menjadi tidak kondusif. Hal tersebut meliputi tindakan menguras, menutup, dan mengubur (3M). Disamping itu ada beberapa upaya yang dapat dilakukan seperti menjaga kebersihan lingkungan rumah serta mengurangi tempat-tempat yang gelap dan lembab di lingkungan tempat tinggal. Lingkungan fisik seperti tipe pemukiman, sarana prasarana penyediaan air, vegetasi, dan musim sangat berpengaruh pada tersedianya habitat pekembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai nyamuk pemukiman dimana mempunyai habitat utama di container buatan di daerah lingkungan pemukiman (Kemenkes RI, 2010; Parida, 2012).

b. Pengendalian nyamuk secara biologis

Pengendalian vektor secara biologis dilakukan dengan menggunakan agen biologi seperti predator atau pemangsa, parasit, dan bakteri. Jenis predator yang digunakan antara lain bakteri *Bacillus thuringiensis* (BTI) dan *Bacillus sphaericus* (BS) dapat digunakan sebagai pembunuh jentik nyamuk atau larvasida yang tidak mengganggu lingkungan. BTI mempunyai keunggulan yaitu dapat menghancurkan jentuk nyamuk tanpa menyerang predator. Formula BTI cenderung cepat mengendap di dasar wadah, karena itu dianjurkan pemakaiannya berulang kali. Selain BTI, beberapa jenis ikan juga dapat digunakan sebagai predator seperti ikan kepala timah (*Panchaxpanchax*) dan ikan gabus (*Gambusia affinis*) (Kemenkes RI, 2010).

c. Pengendalian nyamuk secara kimiawi

Pengendalian vektor dengan cara kimiawi yaitu dengan menggunakan pestisida. Pestisida dapat berupa baik larvasida maupun insektisida. Pestisida sintetik merupakan racun yang bersifat toksik, oleh karena itu penggunaannya harus mempertimbangkan dampak lingkungan

dan organisme yang bukan sasaran termasuk mamalia. Penentuan jenis pestisida, dosis dan metode aplikasi merupakan syarat yang penting untuk dipahami dalam kebijakan pengendalian vektor. Aplikasi pestisida yang berulang di suatu ekosistem dapat menimbulkan terjadinya resistensi nyamuk pada pestisida (Kemenkes RI, 2010). Berbeda dengan pestisida hayati yang terbukti masih efektif dan murah dalam manfaatnya sebagai pengontrol vektor memiliki keuntungan seperti aman, lebih cepat terurai di alam, tidak menyebabkan resistensi, dan bersifat permanen sehingga tidak menimbulkan dampak lingkungan yang membahayakan dan aman bagi organisme mamalia lainnya, termasuk manusia (Rawani *et al.*, 2012; Pratiwi, 2013).

2.3 Abate (*Temephos*)

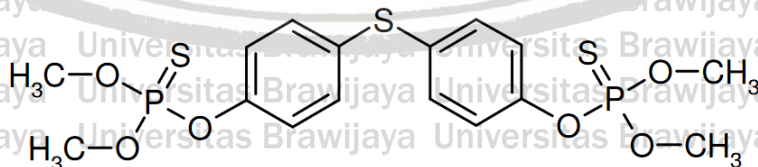
Abate (*temephos*) merupakan salah satu pestisida golongan senyawa organophosphat. Abate merupakan pestisida yang digunakan untuk membunuh serangga pada stadium larva. Selain itu, abate telah digunakan sebagai larvasida di Indonesia sejak tahun 1976. Abate yang digunakan biasanya berbentuk butiran pasir (*sand granules*) yang kemudian ditaburkan di tempat yang digunakan untuk menampung air dengan dosis yang dipakai 1 ppm atau 1 gram untuk 10 liter air. Bentuk *temephos* berupa kristalin putih padat, dengan titik lebur 30°C – 30.5°C, produknya berupa cairan kental berwarna coklat. *Temephos* tidak larut dalam air pada suhu 20°C (kurang dari 1 ppm) dan dalam heksana, tetapi larut dalam aseton, asetonitril, eter. Akan tetapi, *temephos* mudah terdegradasi bila terkena sinar matahari (WHO, 2011).

Pada tahun 1980, abate ditetapkan sebagai bagian dari program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia. Meskipun metode tersebut telah menjadi agenda nasional, tetapi tampaknya populasi *Aedes aegypti* masih belum

berhasil dikendalikan, sehingga angka kesakitan masih sering terjadi dikarenakan abate (*temephos*) sudah digunakan hampir 30 tahun. Akibatnya, penggunaan abate dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan resistensi (Gafur dkk., 2018). Beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Kuba, Perancis, Polynesia, Karibia, Thailand, dan Indonesia, yaitu di Surabaya, Banjarbaru, dan Banjarmasin (Ridha dkk., 2011; Istiana *et al.*, 2012).

2.3.1 Mekanisme Kerja Abate (*Temephos*)

Abate (*temephos*) merupakan larvasida yang memiliki kandungan bahan aktif seperti *Tetramethyl Thiodi P-Phenylene*, *Phosphorothioate* 1% dan *inert ingredient* 99%. *Temephos* bekerja sebagai racun bagi larva dengan cara masuk melalui kulit, terhirup lewat pernapasan, dan termakan lewat mulut (Nugroho, 2013). Pestisida golongan organofosfat mampu menghambat enzim *cholinesterase* atau *anticholinesterase*, sehingga menimbulkan gangguan aktivitas saraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung saraf di area *neuromuscular junction*. Jika enzim *cholinesterase* dihambat, maka asetilkolin pada ujung saraf tidak akan terurai. Asetilkolin yang tidak terurai akan mengakibatkan penumpukan jumlah sehingga otot akan berkontraksi dalam jangka waktu yang lama dan terjadi kejang yang pada akhirnya otot akan lumpuh. Hal ini lah yang mengakibatkan kematian pada larva (Nisa, 2011; WHO, 2011).



Gambar 2.12 Struktur Kimia *Temephos* (WHO, 2011)

Keterangan: *Temephos* merupakan bahan kimia golongan organofosfat dengan nama kimia O,O',O'-tetramethyl O,O'-thiodi-p-phenylene bis(phosphorothioate)

2.4 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Manggis merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia tenggara, yaitu hutan belantara

Kalimantan Timur di Indonesia atau semenanjung Malaya. Tanaman ini tumbuh subur pada daerah yang mendapat banyak sinar matahari, kelembaban tinggi, serta musim kering yang pendek (untuk menstimulasi perbungaan).

Untuk pertumbuhan maksimal, biasanya ditanam di daerah dataran rendah (Nugroho, 2009). Dikenal di luar negeri sebagai “Queen of Tropical Fruits” karena

keistimewaan warna kulit, daging buah, dan memiliki rasa yang unik yaitu manis sekaligus asam dan menyegarkan. Selain itu, manggis juga memiliki nilai gizi yang tinggi sebagai sumber vitamin dan mineral yang sangat bermanfaat bagi tubuh manusia (Supiyanti *et al.*, 2010).



Gambar 2.13 *Garcinia mangostana* L. (Pasaribu *et al.*, 2012)

Keterangan: Buah manggis dengan kulit manggis berwarna merah keunguan yang mengandung senyawa xanthone dan isi buah yang berwarna putih

2.4.1 Taksonomi

Klasifikasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) yaitu:

Kingdom	:	Plantae
Sub Kingdom	:	Tracheobionta
Divisi	:	Spermatophyta
Sub Divisi	:	Angiospermae

Kelas	:	Dicotyledoneae
Sub Kelas	:	Dilleniidae
Ordo	:	Guttiferales
Famili	:	Guttiferae
Genus	:	Garcinia
Spesies	:	<i>Garcinia mangostana</i> L.

(Pasaribu et al., 2012).

2.4.2 Morfologi

Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai bunga betina 1-3 diujung batang dengan susunan menggarpu dan diameter 5-6 cm. Waktu berbunganya antara bulan Mei hingga Januari. Kelopak daun manggis ada 4, dua daun kelopak terluarnya berwarna hijau kuning dan dua daun kelopak yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, dan berbentuk melengkung. Manggis mempunyai 4 daun mahkota, bentuk telur terbalik dan berwarna hijau kuning dengan tepi warna merah. Benang sari mandul biasanya berada di dalam kelopak. Bakal buah dengan 4-8 ruang memiliki kepala putik berjari-jari 5-6. Buah manggis berbentuk bola dengan diameter hingga 7 cm. Kulit buah tebal dan berwarna ungu dengan getahnya berwarna kuning membungkus daging buah yang berwarna putih serta memiliki cita rasa campuran manis dengan sedikit asam. Manggis merupakan tumbuhan pepohonan yang memiliki tinggi hingga 15 meter. Batangnya berkayu, bulat, tegak bercabang simodial dan berwarna hijau kotor. Berdaun tunggal dengan ujung runcing serta pangkal tumpul tepi rata, bentuk tulang menyirip, panjang 20-25 cm serta lebar 6-9 cm, dan tangkai bentuk silindris warna hijau. Bunga tunggal, berkelamin dua, dan berada di ketiak daun. Biji

bulat, berdiameter 2 cm, dan dalam satu buah terdapat 5-7 biji (Pasaribu *et al.*, 2012).

2.4.3 Kulit Manggis

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan dan memiliki bioaktivitas yang biasanya memiliki fungsi sebagai pelindung bagi tumbuhan terhadap serangan hama penyakit. Metabolit sekunder tumbuhan diklasifikasikan menjadi 4 kelompok utama yaitu, senyawa mengandung nitrogen, terpenoid, fenolik dan poliasetat (Nugroho, 2009). Secara umum, kandungan kimia yang terdapat dalam kulit manggis adalah xanthone, antosianin, alkaloid, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin yang merupakan senyawa bioaktif fenolik (Puspitasari dkk., 2013). Xanthone merupakan metabolit sekunder terbesar pada kulit manggis yang memiliki gugus hidroksida (OH^-) yang efektif mengikat radikal bebas di dalam tubuh sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Pada senyawa xanthone terdapat senyawa α -mangostin dan γ -mangostin (Kondo *et al.*, 2009). Flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung pada kulit manggis terbukti mampu bekerja sebagai larvasida. Cara kerja larvasida dalam membunuh nyamuk bermacam-macam, salah satunya yaitu dengan cara mengganggu pencernaan dengan menurunkan aktivitas pencernaan dan merusak struktur saluran pencernaan (Dinata, 2008; Procópio *et al.*, 2015; Suparjo, 2008).

2.5 Kandungan Senyawa Kulit Manggis yang Memiliki *Larvicidal Activity*

2.5.1 Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan yang banyak terdapat pada tanaman. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam jaringan tanaman. Selain itu, flavonoid memiliki aktivitas antimikroba dan insektisida (Redha, 2010). Flavonoid berguna sebagai pengontrol nyamuk/insektisida karena flavonoid bekerja sebagai penghambat enzim *acetylcholinesterase* sehingga terjadi gangguan penghantaran impuls ke otot. Akibatnya, otot akan mengalami kejang sehingga larva akan susah bernapas dan berujung kematian (Wardani dan Yokorinanti, 2010). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit manggis juga dapat mengganggu sistem pencernaan larva (*feeding behavior*) dengan cara memperlambat kemampuan saluran pencernaan untuk mencerna makanan. Akibatnya, larva kekurangan nutrisi yang lama-lama dapat menginduksi kematian (War *et al.*, 2012; Golawska *et al.* 2014; Procópio *et al.*, 2015).

2.5.2 Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga reaksi dari saponin yang dikocok akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Racun pada saponin biasa disebut sebagai sapatoksin (Pradipta, 2011).

Dalam kemampuannya sebagai larvasida, saponin memiliki efek seperti deterjen apabila berinteraksi dengan kolesterol. Hal tersebut akan

berpengaruh pada hormon ekdisteroid yang merupakan hormon pertumbuhan bagi artropoda. Fungsi saponin sebagai *ecdysion blocker* menyebabkan hormon ekdisteroid terhambat sehingga larva tidak mampu bertumbuh dan mati. Senyawa saponin dapat berinteraksi dengan lapisan lilin/l lemak pada kutikula dan akan membentuk misel yang menyebabkan rusaknya lapisan lilin kutikula pada integumen larva yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap benda asing sehingga adanya peningkatan permeabilitas membran sel dapat memudahkan masuknya senyawa toksik ke dalam tubuh dan keluarnya cairan tubuh larva (Chaieb, 2010; Faizal dan Geelen, 2013). Selain itu, saponin berperan dalam menurunkan *intake* makanan pada serangga dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*anti-feeding*) (Dinata, 2008; Suparjo, 2008).

2.5.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa kimia golongan polifenol. Tanin mempunyai kemampuan untuk mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan membentuk ikatan silang yang besar yaitu protein tanin (Sujatmiko, 2012). Tanin mampu menurunkan aktivitas makan pada larva akibat kemampuannya sebagai toksik terhadap sel epitel yang ada di *midgut*. Integritas sel epitel pada *midgut* akan dirusak oleh tanin karena kemampuan tanin dalam meningkatkan radikal bebas atau yang biasa disebut ROS/*reactive oxygen species* sehingga terjadi oksidasi pada sel epitel hingga mengalami kerusakan (Barbehenn dan Constabel, 2011). Tanin juga dapat menghambat proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan serangga melalui pengikatan protein

yang diperlukan tubuh dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase (Dinata, 2008; Minami *et al.*, 2013). Hal ini mengakibatkan tanin akan menekan konsumsi makan sehingga pertumbuhan larva terganggu (Yunita dkk., 2009).

2.6 Larvasida

Larvasida merupakan golongan pestisida yang berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari 2 suku kata, yaitu "Lar" berarti serangga belum dewasa dan "Sida" berarti pembunuh. Maka dari itu, larvasida sendiri dapat diartikan sebagai pembunuh serangga yang belum dewasa. Pemberantasan nyamuk menggunakan larvasida merupakan metode terbaik untuk mencegah penyebaran nyamuk. Parameter aktivitas larvasida dilihat dari kematian larva (Rumengan, 2010).

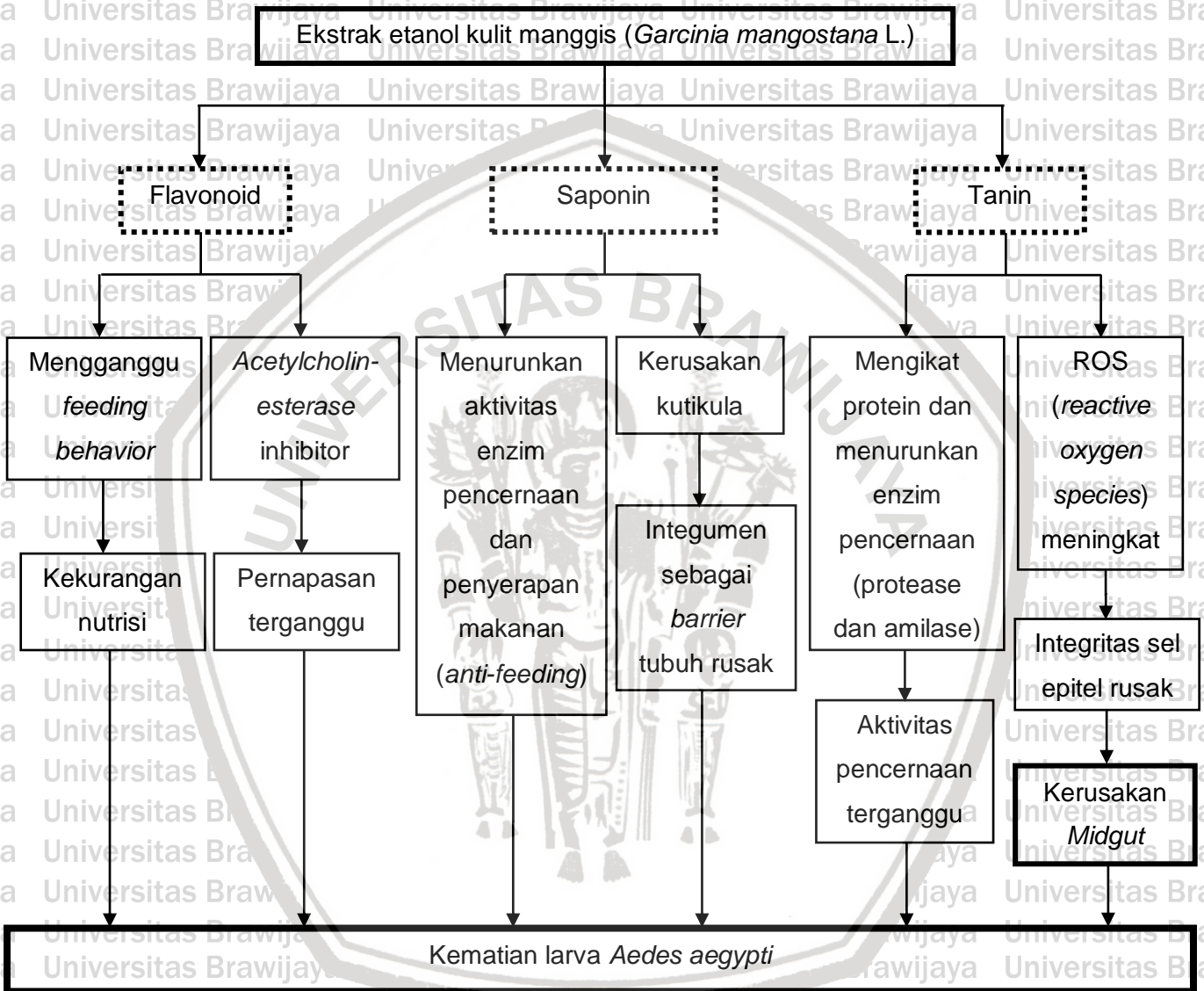
2.6.1 Biolarvasida

Biolarvasida atau larvasida hayati adalah suatu golongan insektisida untuk membunuh larva yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Tumbuhan tersebut mengandung bahan kimia atau bioaktif yang bersifat racun bagi larva, namun mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi makhluk hidup lainnya terutama manusia (Lailatul dkk., 2010).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

 = Diteliti

 = Dibuktikan

3.2 Kerangka Deskripsi

Pada kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) didapatkan zat aktif berupa flavonoid, saponin, dan tanin.

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik pada tanaman.

Flavonoid merupakan senyawa tumbuhan yang berguna sebagai larvasida karena flavonoid bekerja sebagai *acetylcholinesterase inhibitor* sehingga larva susah bernapas dan berujung kematian. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit manggis juga dapat mengganggu *feeding behavior* dengan cara memperlambat kemampuan saluran pencernaan untuk mencerna makanan.

Akibatnya, larva kekurangan nutrisi yang lama-lama dapat menginduksi kematian.

Saponin sebagai *ecdysion blocker* menyebabkan hormon ecdisteroid terhambat sehingga larva tidak mampu bertumbuh dan mati. Saponin juga berperan dalam merusak lapisan lilin/lemak kutikula pada integumen larva yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap benda asing sehingga adanya peningkatan permeabilitas membran sel memudahkan masuknya senyawa toksik ke dalam tubuh dan keluarnya cairan tubuh larva. Selain itu, senyawa saponin dapat menurunkan kemampuan serangga untuk mengonsumsi makanan dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*anti-feeding*).

Tanin yang dikandung ekstrak kulit manggis dapat mengikat protein. Hal ini bersifat racun karena dengan adanya protein dalam tubuh yang terikat, proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan akan terhambat melalui penurunan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase. Tanin mampu menurunkan aktivitas makan pada larva akibat kemampuannya sebagai toksik terhadap sel epitel yang ada di *midgut*. Integritas sel epitel pada *midgut* akan dirusak oleh tanin karena kemampuan tanin dalam

meningkatkan radikal bebas atau yang biasa disebut ROS/reactive oxygen species sehingga terjadi oksidasi pada sel epitel hingga mengalami kerusakan.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai efek biolarvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

4.2.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan bahan penelitian larva tahap instar III. Hal ini dikarenakan tahap instar III ini dianggap cukup mewakili kondisi larva untuk diamati sebab ukurannya yang tidak terlalu kecil sehingga mudah diamati serta aktif mencari makan (Jamaludin, 2013)

a. Kriteria Inklusi

1. Larva nyamuk *aedes aegypti* instar III.
2. Ukuran larva 4-5 mm.

b. Kriteria Eksklusi

1. Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar I, II, IV.
2. Ukuran larva lebih atau kurang dari 4-5 mm.

4.2.3 Jumlah Sampel

Sampel penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol positif (diberi abate), 1 kelompok kontrol negatif (tanpa diberi ekstrak), dan 3 kelompok diberi

perlakuan ekstrak. Masing-masing kelompok perlakuan mewakili konsentrasi dengan jumlah anggota yang sama. Jumlah larva dalam tiap kelompok berdasarkan pedoman WHO yaitu menggunakan 25 larva (WHO, 2005).

Rumus untuk estimasi jumlah pengulangan (Solimun, 2002) :

$$p(n-1) \geq 15$$

Dengan n = Jumlah pengulangan tiap perlakuan

p = Jumlah perlakuan / kelompok coba

maka, $p(n-1) \geq 15$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5(n-5) \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus diatas, maka pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini minimal 4 kali untuk setiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, sehingga jumlah larva yang dibutuhkan adalah :

$$25 \text{ ekor setiap perlakuan} \times 5 \text{ perlakuan} \times 4 \text{ pengulangan} = 500 \text{ ekor larva nyamuk } Aedes aegypti$$

Sebelum melakukan penelitian, dilakukan penelitian pendahuluan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang elektif (larutan dengan konsentrasi minimum dan daya bunuh maksimum) yaitu dengan merendam larva *Aedes aegypti* instar III dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 2%, dan 4%. Pada konsentrasi 4% didapatkan melalui perbandingan 1,6 mL ekstrak etanol kulit manggis dengan pelarut air sumur 40 mL. Pada konsentrasi 2% didapatkan melalui

pengenceran 20 mL konsentrasi 4% dengan 20mL pelarut air sumur.

Pada konsentrasi 1% didapatkan melalui pengenceran 10mL konsentrasi 4% dengan 30 mL pelarut air sumur. Pada konsentrasi 0,5% didapatkan melalui pengenceran 5mL konsentrasi 4% dengan 35 mL pelarut air sumur. Namun pada konsentrasi 2% sudah cukup untuk membunuh semua larva sehingga perlu dilakukan penurunan konsentrasi. Oleh karena itu, didapatkan konsentrasi yang efektif untuk membunuh larva nyamuk yaitu 0,5%, 1%, dan 2%. Pada penelitian ini, terdapat 5 kelompok perlakuan, yaitu:

1. Perlakuan I:

Direndam dengan air sumur sebagai kontrol negatif

2. Perlakuan II:

Direndam abate dengan konsentrasi 1% sebagai kontrol positif

3. Perlakuan III:

Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%

4. Perlakuan IV:

Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 1%

5. Perlakuan V:

Direndam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 2%

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas (independen) adalah jumlah konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada setiap kelompok perlakuan.

4.3.2 Variabel Tergantung (Dependen)

Variabel tergantung (dependen) adalah jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III dan jumlah vakuola yang terbentuk pada kerusakan *midgut*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, untuk pembuatan proposal pada bulan Juni 2017 hingga selesai dan untuk perlakuan penelitian pada bulan Januari 2018 hingga Maret 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kulit manggis serta alat-alat yang digunakan untuk uji potensi ekstrak kulit manggis sebagai larvasida larva *Aedes aegypti*:

- a. Alat pembuatan ekstrak etanol kulit manggis: blender, tabung untuk merendam kulit manggis yang sudah diblender, saringan, kertas saring, gelas ekstraksi (botol), neraca analitik, klem statis, oven, timbangan, seperangkat alat evaporasi vakum (*rotary evaporator*, pompa vakum, tabung pendingin, alat pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, labu penampung hasil evaporasi, labu penampung etanol, batu didih, cawan penguap, alat pemanas aquades (*water bath*), pipa plastik.

- b. Alat-alat untuk uji potensi ekstrak kulit manggis: gelas plastik 250mL (5 buah), *hand counter*, pipet tetes, wadah penampungan larva, lidi, saringan, timbangan, pengaduk, spuit, gelas ukur.

4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol kulit manggis dan bahan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol kulit manggis sebagai biolarvasida.

- a. Bahan-bahan pembuatan ekstrak etanol kulit manggis: kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang telah dikeringkan, aquades, etanol 96% sebagai pelarut, aseton.
- b. Bahan-bahan untuk uji potensi ekstrak etanol kulit manggis: larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, air sumur, ekstrak kulit manggis, abate 1%.

4.6 Definisi Operasional

1. Kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang dipakai ini adalah kulit dari buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang sudah tua/matang yang didapatkan dari Materia Medica Batu.
2. Ekstrak kulit manggis yang dilakukan di Polinema Malang memiliki hasil akhir berupa bahan kental.
3. Pada penelitian ini, larva *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
4. Jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati adalah jumlah larva yang mati dalam waktu 24 jam. Larva *Aedes aegypti* instar III yang dianggap mati yaitu larva tidak dapat bergerak saat disentuh lidi di leher dan diberi rangsangan gerakan air serta tidak bertumbuh menjadi pupa.

5. Kerusakan *midgut* ditandai dengan adanya vakuola-vakuola yang terbentuk pada sitoplasma epitel yang diamati secara histologi.

6. *Larvicidal activity* adalah kemampuan larvasida ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* dilihat dari persentase mortalitas larva.

$$\text{Persentase kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

7. *Absolute Lethal Concentration* (LC100) adalah konsentrasi terendah yang menyebabkan kematian 100% dari organisme atau spesies yang diuji.

8. Biolarvasida adalah larvasida hayati yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Oleh karena terbuat dari bahan alami atau hayati maka jenis larvasida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Kulit Manggis

1. Bubuk manggis yang sebanyak 0,5 kg dimasukkan dalam tabung untuk direndam dengan etanol sebanyak 1000 ml.
2. Pelarut etanol dimasukkan ke dalam tabung tersebut sampai serbuk yang ada di dalam kertas saring terendam dalam pelarut etanol kurang lebih 1 minggu.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Kulit Manggis

1. Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak kulit manggis dengan pelarut etanol untuk mendapatkan bahan dengan konsistensi kental sebanyak 100 gram).

2. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30 hingga 40 derajat terhadap meja percobaan.
3. Hasil rendaman etanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
4. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah evaporator, pendinginan spiral dihubungkan dengan vakum melalui selang plastik, dan dihubungkan pula dengan *waterpump* yang juga melalui selang plastik.
5. *Waterpump* ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, kemudian dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan rata).
6. Evaporator diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*.
7. Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu *waterbath* dinaikkan sesuai titik didih etanol yaitu 78 derajat.
8. Pada titik didih etanol terjadi penguapan antara etanol dengan zat aktifnya ekstrak kulit manggis.
9. Biarkan sirkulasi (pemisahan etanol dengan ekstrak kulit manggis) berjalan sampai etanol berhenti mengalir pada labu pemisah selama kurang lebih 2-3 jam.
10. Setelah itu, ekstrak yang tertinggal pada labu evaporator dipindahkan pada cawan penguap dan dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60 derajat selama 2-3 jam.

11. Hasil akhir diperoleh ekstrak etanol kulit manggis berupa bahan kental yang berwarna merah kecoklatan. Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan.

12. Setelah didapatkan hasil ekstraksi, selanjutnya dibuat larutan stok ekstrak kulit manggis dengan cara 10 g ekstrak kulit manggis dilarutkan dengan aquades hingga volumenya 100 mL.

4.7.3 Pembuatan Larutan Ekstrak dengan Berbagai Konsentrasi

Larutan stok ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) 10% yang tersimpan dalam lemari es dibiarkan di udara kamar selama 15 menit agar menjadi sesuai dengan suhu kamar. Untuk membuat ekstrak kulit manggis 2% digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Dengan $M1$ = konsentrasi larutan stok (10%)

$M2$ = konsentrasi larutan yang diinginkan (2%)

$V1$ = volume larutan stok yang harus dilarutkan

$V2$ = volume larutan ekstrak 2% yang diinginkan (40 mL)

Setelah diperoleh 40 mL larutan ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 2%, selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi 1% dan 0,5% dengan cara pengenceran, yaitu:

1. 20 mL ekstrak kulit manggis 2% ditambahkan 20 mL air sumur.

Diperoleh 40 mL ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 1%.

2. Sisa dari larutan ekstrak kulit manggis 2% diambil 10 mL untuk ekstrak kulit manggis 0,5% dan ditambahkan 30 mL air sumur.

Diperoleh 40 mL ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%.

4.7.4 Metode Uji Fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui keberadaan zat aktif pada ekstrak etanol kulit manggis. Pada penelitian ini dilakukan uji

fitokimia untuk menguji kandungan flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak etanol kulit manggis.

a. Uji Flavonoid

Untuk melakukan uji flavonoid dapat dilakukan dengan melarutkan 1 g ekstrak etanol kulit manggis dengan 1 ml aquades dan 1 ml kloroform, kemudian dihomogenkan dan didiamkan.

Setelah didiamkan, akan terbentuk lapisan air di atas. Lapisan air tersebut diambil dan kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 5 tetes HCl pekat pada lapisan air tersebut lalu dikocok. Warna jingga yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji flavonoid menandakan adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak (Windarini, 2013).

b. Uji Saponin

Uji bahan aktif saponin dilakukan dengan cara melarutkan 0,5 g ekstrak etanol kulit manggis kedalam 10 ml air panas dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik sehingga terbentuk buih. Kemudian ditambahkan HCl 2 M dan 3 tetes *olive oil*/minyak zaitun pada larutan akan menyebabkan terbentuknya emulsi serta buih yang stabil/tidak hilang. Emulsi dan buih yang tidak hilang setelah penambahan HCl 2 M dan 3 tetes minyak zaitun yang terbentuk sebagai hasil akhir uji saponin menandakan adanya senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak (Windarini, 2013).

c. Uji Tanin

Uji bahan aktif tanin dilakukan dengan cara melarutkan 1 g ekstrak etanol kulit manggis dalam 10 ml aquades lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan diberi penambahan

3 tetes FeCl_3 1%. Warna biru tua atau kehitaman yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji tanin menandakan adanya senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak (Windarini, 2013).

4.7.5 Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE)

Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya Olympus di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 100x dan 400x untuk melihat adanya kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* yang ditandai dengan terbentuknya vakuola-vakuola pada sitoplasma epitel *midgut*.

4.7.6 Penghitungan Jumlah Vakuola pada Sitoplasma Epitel *Midgut*

Penghitungan jumlah vakuola yang terbentuk pada sitoplasma epitel *midgut* yang rusak menggunakan perangkat lunak ImageJ.

Penghitungan jumlah vakuola pada sitoplasma epitel *midgut* larva *Aedes aegypti* yang rusak ditentukan atas jumlah area yang dihitung per lapang pandang dengan kalibrasi 100.

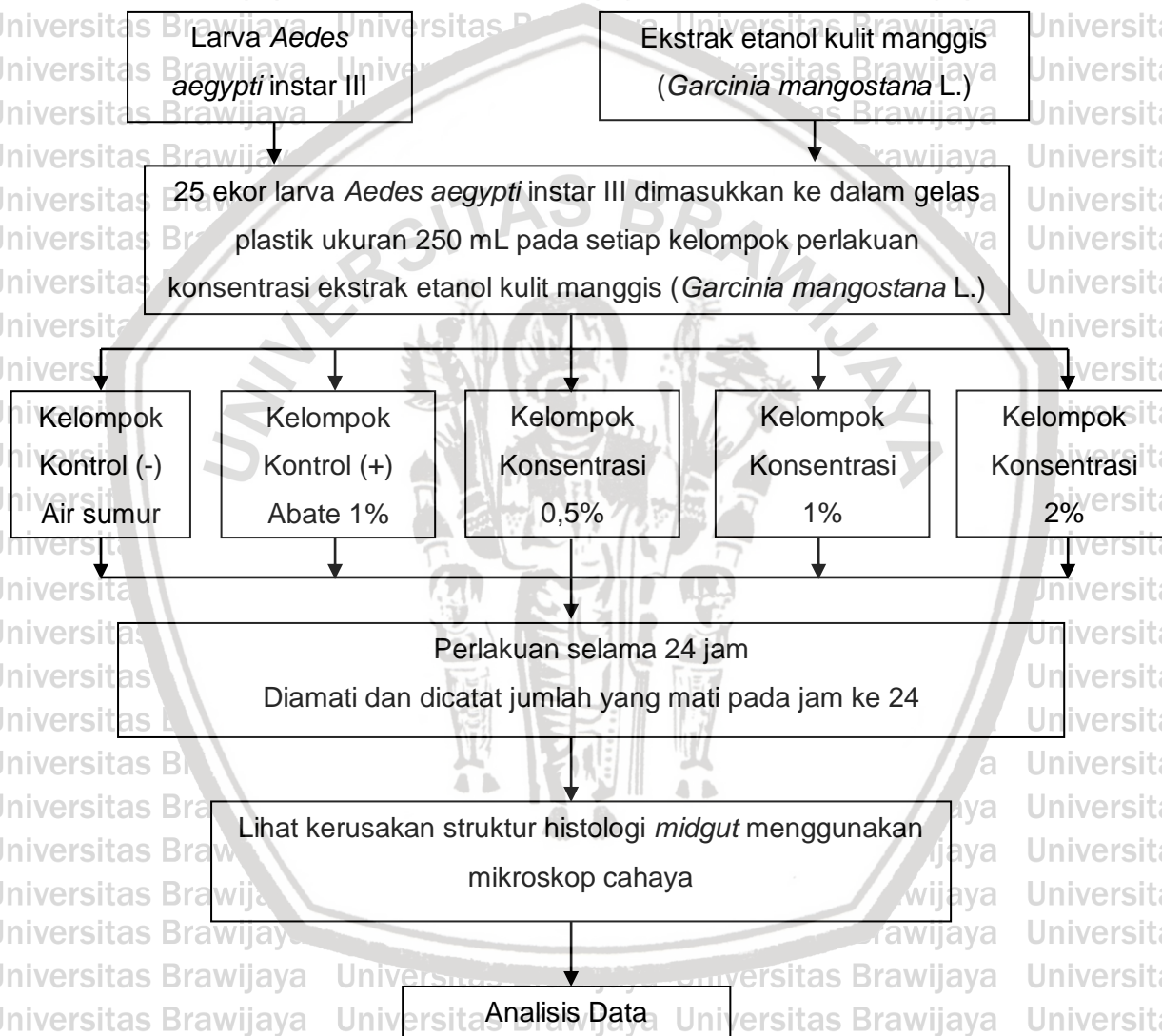
4.8 Analisis Data

Semua data jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati yang didapatkan dari hasil penelitian dihitung menggunakan analisis statistik untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari masing-masing konsentrasi.

Analisis pertama yang dilakukan ialah menghitung distribusi data dari jumlah larva uji yang mati. Selanjutnya, dilakukan uji varian data. Apabila distribusi data tidak normal dan varian data tidak sama atau tidak homogen, tidak dapat dilakukan uji *One way ANOVA* karena tidak terpenuhinya syarat uji parametrik yaitu distribusi data yang normal dan varian yang sama. Selanjutnya sebagai alternatif digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Lalu dilanjutkan uji *post-hoc Mann-*

Whitney untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki perbedaan signifikan dalam menyebabkan kematian larva ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan analisis uji Probit untuk menemukan efek mortalitas ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* yang dinyatakan dengan *Lethal Concentration* (LC).

4.9 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia ini menggunakan metode uji kualitatif. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang berfungsi sebagai biolarvasida. Senyawa-senyawa yang ingin dideteksi antara lain flavonoid, saponin, dan tanin.

5.1.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan bertujuan untuk membuktikan ada atau tidaknya senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). Menurut Windarini (2013), metode yang dilakukan pada uji flavonoid ini yaitu dengan cara melarutkan 1 g ekstrak etanol kulit manggis dengan 1 ml aquades dan 1 ml kloroform, kemudian dihomogenkan dan didiamkan. Setelah didiamkan, akan terbentuk lapisan air di atas. Lapisan air tersebut diambil dan kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 5 tetes HCl pekat pada lapisan air tersebut lalu dikocok. Warna jingga yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji flavonoid menandakan adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis.



Gambar 5.1 Hasil Uji Flavonoid

Keterangan: larutan ekstrak etanol kulit manggis yang telah dicampur dengan 1 ml aquades dan 1 ml kloroform yang telah homogen (a), lapisan air terbentuk dari pencampuran ekstrak dengan 1 ml aquades dan 1 ml kloroform (b), lapisan air yang telah dicampur dengan serbuk Mg dan HCl (c), warna jingga sebagai hasil akhir uji flavonoid (d)

5.1.2 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). Menurut Windarini (2013), metode yang dilakukan pada uji saponin ini yaitu dengan cara melarutkan 0,5 g ekstrak etanol kulit manggis kedalam 10 ml air panas dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik sehingga terbentuk buih. Kemudian ditambahkan HCl 2 M dan 3 tetes *olive oil*/minyak zaitun pada larutan akan menyebabkan terbentuknya emulsi serta buih yang stabil/tidak hilang.

Emulsi dan buih yang tidak hilang setelah penambahan HCl 2 M dan 3 tetes minyak zaitun yang terbentuk sebagai hasil akhir uji saponin menandakan adanya senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis.



Gambar 5.2 Hasil Uji Saponin

Keterangan: larutan ekstrak etanol kulit manggis yang telah dicampur dengan 10 ml air panas dan dikocok (a), buih yang stabil (b), larutan ekstrak yang dicampur HCl 2 M dan *olive oil* (c), emulsi dan buih stabil terbentuk sebagai hasil akhir uji flavonoid (d)

5.1.3 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). Menurut Windarini (2013), metode yang dilakukan pada uji tanin ini yaitu dengan cara melarutkan 1 g ekstrak etanol kulit manggis dalam 10 ml aquades lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan diberi penambahan 3 tetes FeCl₃ 1%. Warna biru tua atau kehitaman yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji tanin menandakan adanya senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis.



Gambar 5.3 Hasil Uji Tanin

Keterangan: larutan ekstrak etanol kulit manggis yang telah dicampur dengan 10 ml aquades dan telah disaring serta ditetesi FeCl₃ 1% (a), warna biru tua atau kehitaman sebagai hasil akhir uji tanin (b)

5.2 Data Kematian Larva

Uji efektivitas ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida pada larva *Aedes aegypti* instar III dilakukan dalam waktu 24 jam.

Tabel 5.1 Rata-rata Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam 24 jam

Perlakuan	Kematian Larva dalam 24 jam	SD
K-	0,00	± 0
K+	25,00	± 0
0,5%	23,00	$\pm 1,258$
1%	24,00	$\pm 0,816$
2%	25,00	± 0

Berdasarkan tabel 5.1, dapat dilihat bahwa pada perlakuan dengan kontrol negatif (air sumur) tidak terdapat kematian pada larva. Pada perlakuan dengan kontrol positif (abate 1%) terdapat rata-rata kematian larva dengan jumlah 25 larva. Perlakuan dengan konsentrasi 0,5% ekstrak etanol kulit manggis terdapat rata-rata kematian sejumlah 23 larva dan pada perlakuan dengan konsentrasi 1% ekstrak etanol kulit manggis terdapat sejumlah rata-rata kematian larva sebesar 24 buah serta pada perlakuan dengan konsentrasi 2% ekstrak etanol kulit manggis terdapat rata-rata kematian pada seluruh larva yang berjumlah total 25 larva.



Gambar 5.4 Jumlah Kematian Larva dalam 24 jam

Gambar 5.4 menunjukkan grafik perbandingan jumlah kematian larva tiap kelompok perlakuan dalam waktu 24 jam telah dilakukan selama 4 kali pengulangan. Berdasarkan grafik 5.1 ini, dapat diketahui bahwa adanya perbandingan lurus antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan peningkatan rata-rata jumlah kematian larva.

5.3 Hasil Perhitungan *Larvicidal Activity*

Tujuan perhitungan *larvicidal activity* adalah untuk mengetahui persentase mortalitas/kematian larva akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada masing-masing konsentrasi.

Persentase kematian larva dihitung dengan rumus sebagai berikut:

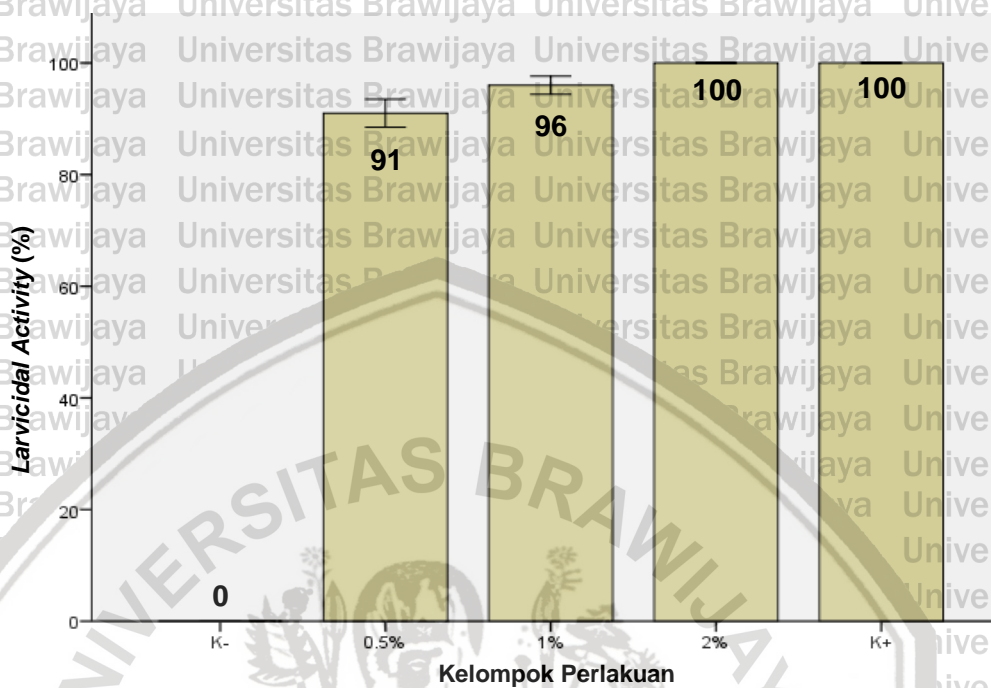
$$\text{Persentase kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

Tabel 5.2 *Larvicidal activity* setelah 24 jam

Pengulangan	Konsentrasi				
	K-	K+	0,5%	1%	2%
1	0%	100%	84%	96%	100%
2	0%	100%	96%	96%	100%
3	0%	100%	92%	92%	100%
4	0%	100%	92%	100%	100%
Rata-rata ± Standar Deviasi	0%±0	100%±0	91%±0,05	96%±0,03	100%±0

Berdasarkan tabel 5.2, diketahui bahwa persentase rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 2% dan kelompok perlakuan kontrol positif (abate 1%), yaitu sebesar 100% kematian pada larva. Rata-rata kematian larva pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 1% sebanyak 96%. Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 0,5%, rata-rata kematian larva sebanyak 91%. Sedangkan rata-rata kematian larva

terendah terdapat pada kelompok perlakuan kontrol negatif (air sumur) sebanyak 0%.

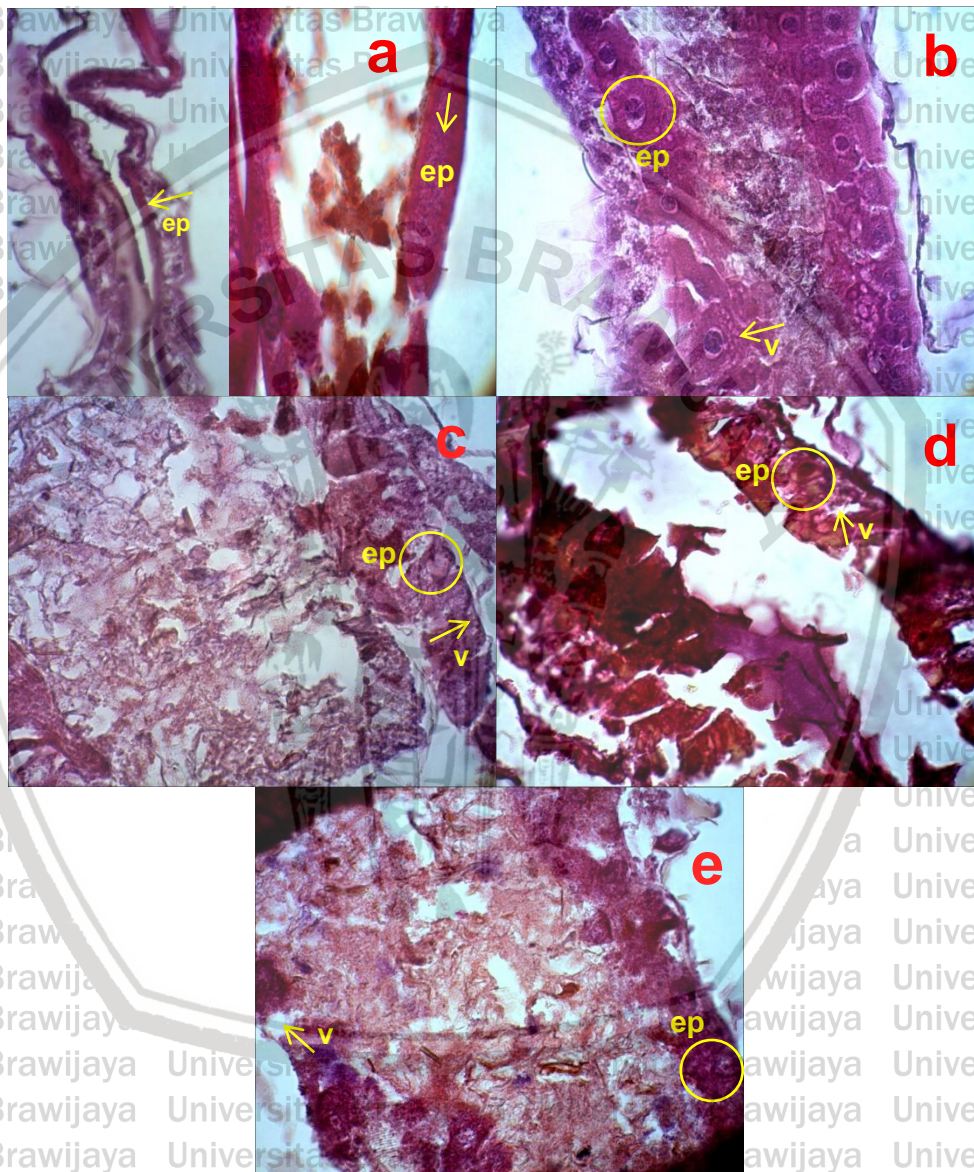


Gambar 5.5 Larvicidal activity setelah 24 jam

Berdasarkan gambar 5.5, diketahui bahwa grafik peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) berbanding lurus dengan peningkatan *larvicidal activity*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula persentase *larvicidal activity*-nya. Dapat diketahui bahwa pada perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,5% memiliki rata-rata kematian larva sebesar 91% dan konsentrasi ekstrak 1% rata-rata kematian larvanya 96%. Pada konsentrasi tertinggi yaitu 2%, rata-rata kematian larva sebesar 100% serta kontrol positif memiliki rata-rata kematian larva sebesar 100%.

5.4 Hasil Pengamatan Kerusakan *Midgut* dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE)

Tujuan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pengecatan HE adalah untuk mengetahui kerusakan struktur *midgut* secara histologi.



Gambar 5.6 Hasil Pengamatan *Midgut* pada Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE)

Keterangan: *midgut* larva *Aedes aegypti* perlakuan kontrol 0,5% (a), *midgut* larva *Aedes aegypti* perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% (b), *midgut* larva *Aedes aegypti* perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% (c), *midgut* larva *Aedes aegypti* perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% (d), *midgut* larva *Aedes aegypti* perlakuan kontrol positif (abate 1%) (e), epitel selapis kolumnar (ep), vakuola yang ditandai dengan adanya lubang-lubang di sitoplasma sel epitel (v), pembesaran 400x

Gambar 5.6 menunjukkan adanya kerusakan struktur pada *midgut*

larva *Aedes aegypti* instar III setelah diberi perlakuan selama 24 jam.

Kerusakan struktur *midgut* ditandai dengan adanya vakuola-vakuola yang terbentuk pada sitoplasma sel epitel *midgut*.

Tabel 5.3 Rata-rata Jumlah Vakuola pada Epitel *Midgut*

Konsentrasi	Pengulangan				Rata-rata ± SD
	1	2	3	4	
K-	0	0	0	0	0±0
0,5%	9	12	8	9	9,5±1,73
1%	15	12	10	12	12,25±2,06
2%	18	18	15	16	16,75±1,5
K+	17	20	18	16	17,75±1,71

Berdasarkan tabel 5.3, dapat terlihat bahwa pada kelompok perlakuan kontrol negatif tidak terdapat adanya kerusakan pada *midgut*.

Pada perlakuan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.)

konsentrasi 0,5% terdapat kerusakan pada *midgut* yang ditunjukkan melalui adanya vakuola yang terbentuk dengan rata-rata jumlahnya yaitu

9,5. Ekstrak dengan konsentrasi 1% menyebabkan kerusakan *midgut*

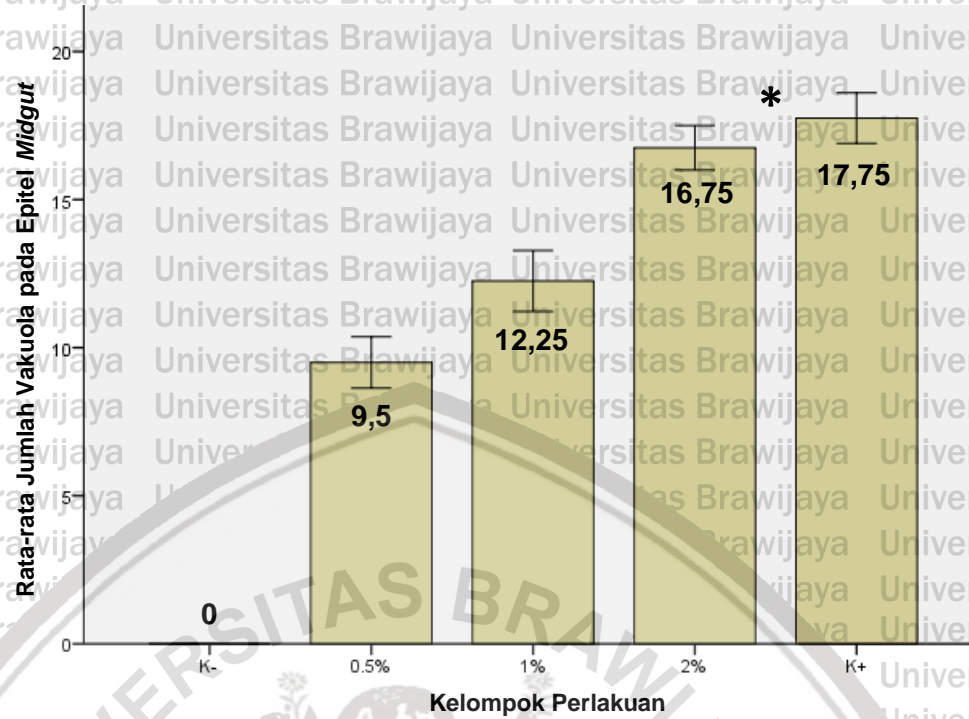
dengan rata-rata jumlah vakuola yang terbentuk yaitu 12,25 serta pada

konsentrasi 2% terbentuk vakuola dengan jumlah rata-rata 16,75.

Kerusakan *midgut* yang dialami oleh larva *Aedes aegypti* pada kelompok

perlakuan kontrol positif paling parah dengan rata-rata jumlah vakuola

17,75.



Gambar 5.7 Rata-rata Jumlah Vakuola pada Epitel Midgut

Keterangan:

* = tidak signifikan

Berdasarkan gambar 5.7, diketahui bahwa grafik peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) berbanding lurus dengan kerusakan *midgut* yang dialami yang ditandai dengan adanya vakuola pada sitoplasma. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin banyak jumlah vakuola yang terbentuk. Perbandingan antara kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% yang masing-masing rata-rata jumlah terbentuknya vakuola yaitu 9,5 dan 12,25. Pada konsentrasi 2% terbentuk vakuola yang lebih banyak lagi dengan jumlah rata-rata 16,75. Kerusakan *midgut* pada kelompok perlakuan kontrol positif paling banyak dengan rata-rata jumlah vakuola 17,75.

5.5 Analisis Data

5.5.1 Uji Distribusi Data

Sebelum melakukan uji *One way ANOVA*, data yang didapatkan harus memenuhi syarat data terdistribusi normal. Maka dari itu, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *one sample Kolmogorov-Smirnov test* untuk mengetahui normalitas data. Hasil yang didapatkan berupa nilai *Kolmogorov-Smirnov test* sebesar 0,393 dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi normal.

5.5.2 Uji Varian Data

Selanjutnya, uji varian data dilakukan dengan menggunakan *Levene test*. Hasil yang didapat menunjukkan nilai *Levene test* sebesar 3,558 dengan nilai signifikansi $p = 0,031$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data tidak sama atau data tidak homogen. Oleh sebab itu, data tidak memenuhi syarat untuk menggunakan uji *One way ANOVA* dikarenakan data tersebut tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dan varian tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga data akan dianalisis dengan menggunakan uji alternatif, yaitu uji *Kruskal Wallis*.

5.5.3 Uji Kruskal Wallis

Uji *Kruskal Wallis* dilakukan dan didapatkan hasil dengan nilai signifikansi $p = 0,002$ ($p < 0,05$). Hasil $p = 0,002$ menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan terhadap rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III untuk tiap-tiap kelompok perlakuan.

5.5.4 Uji *Post Hoc* Mann-Whitney

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk membandingkan rata-rata jumlah kematian larva antar kelompok perlakuan sehingga dapat diketahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan atau tidak dengan kelompok perlakuan lain.

Tabel 5.4 Hasil uji *Post Hoc* Mann-Whitney Kematian Larva

Kelompok perlakuan	P value	Kemaknaan
Kontrol negatif dengan 0,5%	0,013	Signifikan
Kontrol negatif dengan 1%	0,013	Signifikan
Kontrol negatif dengan 2%	0,008	Signifikan
Kontrol negatif dengan kontrol positif	0,008	Signifikan
0,5% dengan 1%	0,129	Tidak signifikan
0,5% dengan 2%	0,013	Signifikan
0,5% dengan kontrol positif	0,013	Signifikan
1% dengan 2%	0,046	Signifikan
1% dengan kontrol positif	0,046	Signifikan
2% dengan kontrol positif	1,000	Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.4, dapat diketahui bahwa terdapat 2 pasang kelompok perlakuan yang tidak memiliki beda yang signifikan ($p > 0,05$), yaitu antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% ($p = 0,129$) dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p=1,000$). Sedangkan 8 kelompok lainnya memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yakni antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dan konsentrasi 1% ($p = 0,013$), antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% dan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,008$), antara kelompok perlakuan ekstrak

etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,013$), antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,013$), dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,046$), serta antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,046$).

Tabel 5.5 Hasil uji *Post Hoc Mann-Whitney* Jumlah Vakuola

Kelompok perlakuan	P value	Kemaknaan
Kontrol negatif dengan 0,5%	0,013	Signifikan
Kontrol negatif dengan 1%	0,013	Signifikan
Kontrol negatif dengan 2%	0,013	Signifikan
Kontrol negatif dengan kontrol positif	0,014	Signifikan
0,5% dengan 1%	0,074	Tidak signifikan
0,5% dengan 2%	0,019	Signifikan
0,5% dengan kontrol positif	0,020	Signifikan
1% dengan 2%	0,027	Signifikan
1% dengan kontrol positif	0,020	Signifikan
2% dengan kontrol positif	0,457	Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.5, dapat diketahui bahwa terdapat 2 pasang kelompok perlakuan dengan jumlah vakuola yang tidak memiliki beda yang signifikan ($p > 0,05$), yaitu antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% ($p = 0,074$) dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,457$). Sedangkan 8 kelompok lainnya memiliki perbedaan jumlah vakuola yang signifikan ($p < 0,05$) yakni antara

kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5%, konsentrasi 1%, dan konsentrasi 2% ($p = 0,013$), antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,014$), antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,019$), antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,020$), dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,027$), serta antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,020$).

5.5.5 Uji Probit

Uji probit dilakukan untuk menemukan efek mortalitas ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* yang dinyatakan dalam *Lethal Concentration* (LC).

Tabel 5.6 Hasil Uji Probit

95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Probability	Estimate
PROBIT	0.1	0,647
	0.2	0,739
	0.3	0,814
	0.4	0,884
	0.5	0,954
	0.6	1,031
	0.7	1,119
	0.8	1,232
	0.9	1,408
	0.96	1,624
	0.99	1,934

Berdasarkan hasil uji probit dengan tingkat kepercayaan 95% (Tabel 5.6) menunjukkan bahwa konsentrasi yang mampu membunuh 100% larva (LC100) adalah 1,934%. Pada penelitian ini, konsentrasi tertinggi yang mampu membunuh 100% larva adalah 2%.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Upaya pencegahan perluasan penyakit DBD dapat dilakukan terutama dengan cara memberantas vektor penyakit yaitu *Aedes aegypti*.

Penggunaan pestisida seperti larvasida dan insektisida efektif untuk membunuh vektor. Larvasida yang paling banyak digunakan untuk adalah abate (*temephos*). Namun, penggunaan abate bersifat racun bagi manusia dan hewan-hewan lain di sekitarnya serta penggunaan secara menahun dapat menyebabkan polusi lingkungan dan resistensi. Beberapa negara seperti Perancis, Thailand, dan Indonesia telah dilaporkan terjadi resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap abate (Ridha dkk., 2011; Istiana dkk., 2012).

Biolarvasida atau larvasida hayati adalah larvasida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Tumbuhan tersebut mengandung bahan kimia atau bioaktif yang bersifat racun bagi larva, namun mudah terurai di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi makhluk hidup lainnya terutama manusia. Biolarvasida juga tidak menyebabkan resistensi dan bersifat permanen (Pratiwi, 2013).

Kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki kandungan senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin yang merupakan senyawa bioaktif fenolik (Puspitasari dkk., 2013).

Flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung pada kulit manggis mampu bekerja sebagai larvasida dengan cara mengganggu pencernaan dengan menurunkan aktivitas pencernaan. Hal tersebut menyebabkan

adanya kerusakan struktur pada saluran pencernaan larva (Dinata, 2008; Suparjo, 2008; Procópio *et al.*, 2015).

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ada kematian larva akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) selama 24 jam. Larva *Aedes aegypti* dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok berjumlah 25 larva dan dilakukan 4 kali pengulangan. Kelompok perlakuan tersebut dibagi menjadi kelompok kontrol negatif (air sumur), kelompok kontrol positif (abate 1%), dan kelompok ekstrak konsentrasi 0,5% serta kelompok ekstrak konsentrasi 1% dan kelompok konsentrasi 2%. Pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat kematian larva dan kelompok kontrol positif rata-rata kematian larva berjumlah 25 larva (seluruhnya mati). Pada kelompok ekstrak 0,5% terdapat rata-rata 23 larva yang mati, kelompok ekstrak 1% terdapat rata-rata 24 larva yang mati, dan kelompok 2% terdapat rata-rata 25 larva yang mati (seluruh larva mati). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki pengaruh sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Namun, ekstrak etanol kulit manggis memiliki warna yang keruh.

6.2 Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Kulit Manggis Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Uji fitokimia yang telah dilakukan adalah sebagai bukti bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki kandungan senyawa-senyawa yang mampu mematikan larva/sebagai biolarvasida. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak etanol kulit manggis mengandung senyawa-

senyawa antara lain flavonoid, saponin, dan tanin (Windarini, 2013).

Namun, pada penelitian kali ini hanya dilakukan uji fitokimia secara kualitatif dan uji fitokimia secara kuantitatif belum dilakukan.

6.3 Larvicidal Activity Ekstrak Etanol Kulit Manggis pada Larva *Aedes*

aegypti

Perhitungan *larvicidal activity* pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui persentase kematian larva *Aedes aegypti* instar III akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) selama 24 jam. Berdasarkan hasil perhitungan *larvicidal activity* ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* instar III, didapatkan hasil persentase rata-rata jumlah kematian larva setelah 24 jam perlakuan yaitu, kontrol negatif sebanyak 0%, ekstrak etanol kulit manggis 0,5% sebanyak 91%, ekstrak etanol kulit manggis 1% sebanyak 96%, dan ekstrak etanol kulit manggis 2% sebanyak 100% serta kontrol positif (abate 1%) sebanyak 100%. Dengan semakin meningkatnya persentase kematian, dapat diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dalam kemampuannya sebagai biolarvasida berbanding lurus dengan peningkatan *larvicidal activity*.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suhardjo (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) dengan konsentrasi 4% mampu membunuh 96% larva *Aedes aegypti* dalam waktu 24 jam. Jika dibandingkan dengan penelitian tersebut, ekstrak etanol kulit manggis lebih efektif dalam membunuh larva dikarenakan dengan konsentrasi 2% sudah dapat membunuh 100% larva dalam 24 jam.

Kelompok perlakuan kontrol positif (abate 1%) pada penelitian ini

mampu membunuh 100% larva dalam 24 jam, sedangkan ekstrak etanol kulit manggis 2% juga mampu membunuh 100% larva dalam 24 jam, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis dapat digunakan sebagai pengganti abate sebagai biolarvasida *Aedes aegypti* karena pengaruh terhadap kematian larva sama dengan jika diberi abate.

6.4 Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis Terhadap Kerusakan *Midgut* dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya dengan Pengecatan Hematoxylin dan Eosin (HE)

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pengecatan Hematoxylin dan Eosin untuk melihat kerusakan pada *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III. *Midgut* merupakan bagian dari saluran pencernaan dibagi menjadi *midgut* anterior, *midgut* sentral, dan *midgut* posterior yang berada pada bagian abdomen larva. Abdomen larva *Aedes aegypti* tersusun atas 8 segmen. *Midgut* terletak pada segmen ke-1 hingga ke-5 yang dimulai dengan *midgut* anterior yaitu gastric caecum pada segmen pertama, *midgut* sentral/media berada pada segmen ke-2 dan ke-3, sedangkan *midgut* posterior berada pada segmen abdomen ke-4 dan ke-5. *Midgut* sebagai tempat utama untuk penyerapan nutrisi, ion-ion, dan juga air sehingga fungsi *midgut* bagi larva *Aedes aegypti* yaitu sebagai sistem pencernaan, homeostasis ion, serta osmoregulasi. Epitel pada saluran pencernaan larva adalah epitel selapis kolumnar dengan mikrovili. Mikrovili usus terdapat pada *brush border* yang berfungsi untuk membantu penyerapan makanan. Selain itu, terdapat reseptor protein spesifik di membran *brush border* yang mampu berikatan dengan toksin. Oleh sebab itu, *midgut*

merupakan salah satu organ yang memberikan koneksi antara larva dengan lingkungan sekitarnya (de Lemos *et al.*, 2018).

Fungsi *midgut* sebagai tempat pencernaan yang apabila terjadi sedikit kerusakan akan menyebabkan terganggunya absorpsi makanan serta osmoregulasi. Kerusakan pada *midgut* ditandai dengan adanya kerusakan pada epitel dengan vakuola-vakuola pada sitoplasma. Vakuola-vakuola pada sitoplasma sel epitel terjadi akibat adanya vakuolisasi yang terbentuk karena gangguan osmoregulasi dan gangguan homeostasis ion (Procópio *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya, terdapat perubahan struktur *midgut* secara histologis pada tiap kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya kerusakan *midgut*. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% rata-rata jumlah vakuola yang terbentuk yaitu 9,5 sedangkan kelompok ekstrak etanol kulit manggis 1% rata-rata jumlah vakuola yang terbentuk yaitu 12,25. Pada konsentrasi 2% terbentuk vakuola dengan jumlah rata-rata 16,75 dan pada kelompok perlakuan kontrol positif rata-rata jumlah vakuola yaitu 17,75. Hal ini menandakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) menyebabkan peningkatan jumlah vakuola yang terbentuk pada sel epitel *midgut*. Perbedaan jumlah rata-rata vakuola yang terbentuk pada kelompok perlakuan antara ekstrak 2% dan kontrol positif tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (rata-rata jumlah vakuola pada ekstrak 2% yaitu 16,75 dan rata-rata jumlah vakuola pada kontrol positif yaitu 17,75). Hal tersebut dikarenakan ekstrak etanol kulit manggis 2% mampu memberikan pengaruh yang sama dengan abate terhadap kerusakan *midgut* pada larva sehingga ekstrak etanol kulit

manggis 2% dapat digunakan sebagai biolarvasida pengganti abate untuk membunuh larva dalam kemampuan merusak *midgut*.

Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.)

mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa flavonoid bekerja sebagai penghambat enzim *acetylcholinesterase* sehingga terjadi gangguan penghantaran impuls ke otot. Akibatnya, otot akan mengalami kejang sehingga larva akan susah bernapas dan berujung kematian (Wardani dan Yokorinanti, 2010). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit manggis juga dapat mengganggu sistem pencernaan larva (*feeding behavior*) dengan cara memperlambat kemampuan saluran pencernaan untuk mencerna makanan. Akibatnya, larva kekurangan nutrisi yang lama-lama dapat menginduksi kematian (War *et al.*, 2012; Golawska *et al.* 2014; Procópio *et al.*, 2015). Saponin sebagai *ecdysion blocker* menyebabkan hormon ecdisteroid terhambat sehingga larva tidak mampu bertumbuh dan mati. Senyawa saponin dapat berinteraksi dengan lapisan lilin/lemak pada kutikula dan akan membentuk misel yang menyebabkan rusaknya lapisan lilin kutikula pada integumen larva yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap benda asing, sehingga adanya peningkatan permeabilitas membran sel dapat memudahkan masuknya senyawa toksik ke dalam tubuh dan keluarnya cairan tubuh larva (Chaieb, 2010; Faizal dan Geelen, 2013). Selain itu, saponin berperan dalam menurunkan *intake* makanan pada larva dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*anti-feeding*) (Dinata, 2008; Suparjo, 2008). Tanin mampu menurunkan aktivitas makan pada larva akibat kemampuannya sebagai toksik terhadap sel epitel yang ada di *midgut*. Integritas sel epitel pada *midgut* akan dirusak oleh tanin karena kemampuan tanin dalam meningkatkan radikal bebas atau yang biasa

disebut ROS/*reactive oxygen species* sehingga terjadi oksidasi pada sel epitel hingga mengalami kerusakan (Barbehenn dan Constabel, 2011).

Tanin juga dapat menghambat proses penyerapan protein melalui pengikatan protein yang diperlukan tubuh dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase (Dinata, 2008; Minami *et al.*, 2013). Hal ini mengakibatkan tanin akan menekan konsumsi makan sehingga pertumbuhan larva terganggu (Yunita dkk., 2009). Namun, pada penelitian kali ini belum dilakukan isolasi tanin dengan HPLC untuk membuktikan senyawa tanin mampu merusak *midgut* melalui perubahan integritas sel.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis menyebabkan kerusakan pada *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III yang ditandai dengan adanya kerusakan epitel akibat senyawa tanin yang terkandung. Hal tersebut sesuai dengan Procópio *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa terdapat kerusakan pada *midgut* larva *Aedes aegypti* setelah terpapar oleh ekstrak daun lada merah (*Schinus terebinthifolius*) yang mengandung tanin.

6.5 Hasil Analisis Data dan LC100

Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* yang telah dilakukan, didapatkan hasil $p = 0,002$ ($p < 0,05$). Hasil $p = 0,002$ menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III pada setiap kelompok perlakuan yang berarti konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis memiliki pengaruh pada rata-rata jumlah kematian larva. Setelah dilakukan uji *Kruskal Wallis*, dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbandingan rata-rata jumlah kematian larva antara kelompok perlakuan dan kelompok perlakuan lain. Dari 10

pasang kelompok, terdapat 8 pasang kelompok yang memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,05$) yakni kelompok pasangan pertama antara kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 0,5% dan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% ($p = 0,013$) dan kelompok pasangan kedua antara kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 0,5% dan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,013$). Kemudian, antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,046$) dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,046$). Untuk 4 pasang kelompok lainnya yang memiliki perbedaan signifikan yaitu antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan seluruh kelompok perlakuan ekstrak yang lain yakni kontrol negatif dengan ekstrak 0,5% ($p = 0,013$), kontrol negatif dengan ekstrak 1% ($p = 0,013$), dan kontrol negatif dengan ekstrak 2% ($p=0,008$) serta kontrol negatif dengan kontrol positif ($p = 0,008$). 2 pasang kelompok perlakuan yang tersisa adalah kelompok dengan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$), yaitu antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% ($p = 0,129$) dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 1,000$). Perbedaan yang tidak signifikan menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak dalam membunuh larva antara konsentrasi yang satu dengan yang lainnya memiliki efek yang sama, sehingga hasil yang didapatkan tidak berbeda secara signifikan. Perbedaan antara ekstrak konsentrasi 2% dengan kontrol positif yang tidak signifikan menunjukkan efek ekstrak konsentrasi 2% terhadap kematian larva sama dengan efek kontrol positif. Uji *Mann-*

Whitney juga dilakukan untuk melihat rata-rata perbandingan jumlah vakuola kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Dari 10 pasang kelompok, terdapat 8 pasang kelompok yang memiliki perbedaan jumlah vakuola yang signifikan ($p < 0,05$) yakni antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5%, konsentrasi 1%, dan konsentrasi 2% ($p = 0,013$), antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,014$), antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,019$), antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,020$), dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% ($p = 0,027$), serta antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,020$). Sedangkan 2 pasang kelompok perlakuan dengan jumlah vakuola yang tidak memiliki beda yang signifikan ($p > 0,05$), yaitu antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 1% ($p = 0,074$) dan antara kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis konsentrasi 2% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ($p = 0,457$). Perbedaan antara ekstrak konsentrasi 2% dengan kontrol positif yang tidak signifikan menunjukkan efek ekstrak konsentrasi 2% dalam kemampuannya merusak *midgut* sama dengan efek kontrol positif.

Uji probit dengan tingkat kepercayaan 95% yang telah dilakukan memberikan hasil bahwa konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan

100% kematian adalah 1,934%. Pada penelitian ini, konsentrasi tertinggi dengan LC100 yang mampu membunuh 100% adalah 2% sehingga ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) konsentrasi 2% sebagai biolarvasida mampu membunuh 100% larva *Aedes aegypti* instar III. Namun, pada penelitian kali ini belum dilakukan uji toksisitas mengetahui efek samping ekstrak bagi manusia.

6.6 Keterbatasan Penelitian

Terkait dengan penelitian yang telah dilakukan ini, ada beberapa keterbatasan yang dialami. Keterbatasan-keterbatasan tersebut antara lain:

1. Belum dilakukan uji kuantitatif kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak etanol kulit manggis
2. Belum dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui efek samping ekstrak etanol kulit manggis bagi manusia.
3. Belum dilakukan pembuktian senyawa tanin memang mampu merusak *midgut* melalui perubahan integritas sel dengan cara isolasi menggunakan HPLC.
4. Ekstrak etanol kulit manggis memiliki warna yang keruh sehingga perlu zat yang mampu menjernihkan air seperti karbon aktif.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki pengaruh sebagai biolarvasida yang mampu membunuh larva *Aedes aegypti* instar III.
2. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung senyawa-senyawa yang mampu bekerja sebagai biolarvasida yaitu senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.
3. Larvicidal activity ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan konsentrasi 0,5% sebanyak 91%, konsentrasi 1% sebanyak 96%, dan konsentrasi 2% sebanyak 100%, menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki kemampuan yang sama dengan abate. Konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang mampu membunuh 100% larva (LC100) yaitu 1,934%.
4. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mampu menyebabkan kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III dilihat secara histologi.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan yang telah dikemukakan, maka diberikan beberapa saran yang dapat diambil untuk menyempurnakan penelitian yang telah dilakukan, yaitu sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap larva nyamuk jenis yang lain.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui efek samping ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap manusia bila digunakan sebagai biolarvasida.
3. Perlu dilakukan pembuktian senyawa tanin mampu merusak *midgut* melalui perubahan integritas sel dengan cara mengisolasi senyawa tanin menggunakan HPLC.
4. Perlu dilakukan pencarian bahan/zat yang mampu menjernihkan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) apabila dilarutkan dalam air sebagai biolarvasida.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, U.F., 2011. Dasar-dasar penyakit berbasis lingkungan. *Jakarta: PT Rajagrafindo Persada*, pp.18-25.
- Anggraeni, Y.M., 2010. Laporan Akhir Efikasi Ekstrak Kristal Endotoksin *Bacillus thuringiensis israelensis* (h-14) terhadap Larva *Aedes aegypti*, *Anopheles aconitus* dan *Culex quinquefasciatus*.
- Arsin, A.A., 2013. Epidemiologi Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia.
- Barbehenn, R.V. and Constabel, C.P., 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), pp.1551-1565.
- Chaieb, I., 2010. Saponins as insecticides: a review. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 5(1), pp.39-50.
- de Lemos, A.B., Adam, F.C., de Moura, K.R.S., de Moraes, L.B. and da Silva, O.S., 2018. Histological and Histochemical Characterization of the Midgut of Healthy *Aedes aegypti* Larvae. *Ann. Res. Rev. Biol.*, 22(1), pp.1-15.
- Departemen Kesehatan R.I., 2007. Pemberantasan Sarang Nyamuk Demam Berdarah Dengue (PSN DBD) oleh Juru Pemantauan Jentik. *Jakarta: Depkes RI*.
- Dinata, A., 2008. Atasi Jentik DBD dengan Kulit Jengkol. (Online). <http://arda.students-blog.undip.ac.id/2009/10/18/atasi-jentik-DBD-dengan-kulit-jengkol>, diakses tanggal 14 Juni 2017.
- Faizal, A., & Geelen, D., 2013. Saponins and their role in biological processes in plants. *Phytochemistry reviews*, 12(4), pp. 877-893.
- Gafur, A., Mahrina, M. and Hardiansyah, H., 2018. Kerentanan larva *Aedes aegypti* dari Banjarmasin Utara terhadap temefos. *Bioscientiae*, 3(2).
- Goławska, S., Sprawka, I., Łukasik, I. and Goławski, A., 2014. Are naringenin and quercetin useful chemicals in pest-management strategies?. *Journal of pest science*, 87(1), pp.173-180.
- Istiana, I., Heriyani, F. and Isnaini, I., 2012. Resistance Status of *Aedes Aegypti* Larvae to Temephos in West Banjarmasin. *Jurnal Buski*, 4(2), pp.53-58.
- Jamaludin, S., 2013. Efektivitas Pemberian Ekstrak Ethanol 70% Daun Kecombrang (*Etingera elatior*) Terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti* sebagai Biolarvasida Potensial. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Lampung.
- Kardinan, A., 2011. Penggunaan pestisida nabati sebagai kearifan lokal dalam pengendalian hama tanaman menuju sistem pertanian organik. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 4(4), pp.262-278.

Kementerian Kesehatan, R.I., 2010. Buletin Jendela Epidemiologi: Demam Berdarah Dengue. *Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Vol. 2*, Jakarta.

Kementerian Kesehatan, R.I., 2011. Modul pengendalian demam berdarah dengue. *Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit Dan Pencegahan Lingkungan*.

Kementerian Kesehatan, R.I., 2016. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015. *Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2016*, hal. 187-191.

Kementerian Kesehatan, R.I., 2017. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016. *Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2017*, hal. 179-183.

Lailatul, K. L., Kadarohman, A. dan Eko, R., 2010. Efektivitas biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 1(1).

Kondo, M., Zhang, L., Ji, H., Kou, Y. and Ou, B., 2009. Bioavailability and antioxidant effects of a xanthone-rich Mangosteen (*Garcinia mangostana*) product in humans. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(19), pp.8788-8792.

Lestari, E., 2010. Efektivitas Ekstrak Daun Kemangi terhadap Larva Instar III *Anopheles maculatus*, Skripsi, Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia.

Malathi, P. and Vasugi, S.R., 2015. Evaluation of mosquito larvicidal effect of *Carica Papaya* against *Aedes Aegypti*. *International Journal of Mosquito Research*, 2(3), pp.21-24.

Meisyaroh, M., Askar, M. and Simunati, S., 2013. Faktor yang Berhubungan dengan Derajat Keparahan DBD (Demam Berdarah *Dengue*) pada Anak di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis*, 1(6), pp.107-113.

Minami et al. 2013. Larvacidal activity of the ethyl acetate leaf extract of *Murraya paniculata* (L.) Jack againsts *Aedes aegypti* mosquito larvae. *African Journal of Biotechnology*, 12(3), pp. 216 – 345.

Misnadiarly, 2009. Demam Berdarah Dengue (DBD): Ekstrak Daun Jambu Biji Bisa untuk Mengatasi DBD. *Yayasan Pustaka Obor Indonesia*, Jakarta, hal.6-7.

Mulyanti, P.D., 2012. Pengaruh Waktu Simpan terhadap Daya Tetas Telur *Aedes aegypti*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Nisa, K., 2011. *Uji Kerentanan Larva Aedes aegypti terhadap Temephos (Abate) Secara In vitro Di Daerah Endemis DBD Kelurahan Sekumpul Kecamatan Martapura Kabupaten Banjar Propinsi Kalimantan Selatan Tahun 2011* (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).

- Noshirma, M. dan Willa, R.W., 2016. Larvasida Hayati Yang Digunakan Dalam Upaya Pengendalian Vektor Penyakit Demam Berdarah Di Indonesia. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 3(1), pp.31-40.
- Nugroho, A. D., 2013. *Perbedaan Jumlah Kematian Larva Aedes aegypti setelah Pemberian Abate Dibandingkan dengan Pemberian Serbuk Serai (Andropogon nardus)* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Semarang).
- Nugroho, A. E., 2009. Manggis (*Garcinia mangostana* L.): dari Kulit Buah yang Terbuang hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. *Majalah Obat Tradisional* 12(42), hal. 1–9.
- Parida, S., Dharma, S. and Hasan, W., 2012. Hubungan Keberadaan Jentik *Aedes Aegypti* Dan Pelaksanaan 3m Plus Dengan Kejadian Penyakit DBD Di Lingkungan XVIII Kelurahan Binjai Kota Medan Tahun 2012. *Lingkungan dan Keselamatan Kerja*, 2(2).
- Pasaribu, F., Sitorus, P. and Bahri, S., 2012. The Test of Ethanol Extract of Mangosteen Rind (*Garcinia mangostana* L.) to Decrease Blood Glucose Level. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, 1(1), pp.1-8.
- Pradipta, A., 2011. *Pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Sansevieria trifasciata Prain terhadap Staphylococcus aureus IFO 13276 dan Pseudomonas aeruginosa IFO 12689* (Doctoral dissertation, UAJY).
- Pratiwi, Y.C., 2013. Efektivitas Ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. *LenteraBio*, 2(3).
- Procópio, T.F., Fernandes, K.M., Pontual, E.V., Ximenes, R.M., de Oliveira, A.R.C., de Santana Souza, C., de Albuquerque Melo, *et al.*, 2015. *Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. *PloS one*, 10(5), p.e0126612.
- Puspitasari, L., Swastini, D.A. dan Arisanti, C.I.A., 2013. Skrining fitokimia ekstrak etanol 95% kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Universitas Udayana*. Skripsi.
- Rawani, A., Ghosh, A., Laskar, S. and Chandra, G., 2012. Aliphatic amide from seeds of *Carica papaya* as mosquito larvicide, pupicide, adulticide, repellent and smoke toxicant. *Journal of Mosquito Research*, 2(1).
- Redha, A., 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian Vol*, 9(2), pp.196-202.
- Rena, N.M.R.A., Utama, S. dan Parwati, T., 2009. Kelainan Hematologi pada Demam Berdarah Dengue. *Jurnal Penyakit Dalam*, 10(3), pp.218-225.
- Ridha, M.R. dan Nisa, K., 2011. Larva *Aedes aegypti* sudah toleran terhadap Temepos di kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Vektora: Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*, 3(2 Okt), pp.92-109.

Rumengan, A.P., 2010. Uji Larvasida Nyamuk (*Aedes aegypti*) Dari Ascidian (*Didemnum Molle*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 6(2), pp.83-86.

Sidiek, A. dan Arkhaesi, N., 2012. *Hubungan Tingkat Pengetahuan Ibu Mengenai Penyakit DBD Terhadap Kejadian Penyakit DBD Pada Anak* (Doctoral dissertation, Fakultas Kedokteran).

Solimun. 2002. *Multivariate Analysis Structural Equation Modelling (SEM) Lisrel dan Amos*. Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang.

Sudarmaja, I.M. and Mardihusodo, S.J., 2009. Pemilihan tempat bertelur nyamuk *Aedes aegypti* pada air limbah rumah tangga di Laboratorium. *Jurnal Veteriner*, 10(4), pp.205-207.

Suhendro, Leonard, N., Khie, C., dan Herdiman T.P., 2009. Demam Berdarah Dengue: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi V. *Interna Publishing*, Jakarta.

Sujatmiko, Y.A., 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* B.) Dengan Cara Ekstraksi Yang Berbeda Terhadap *Escherichia Coli* Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).

Sumantri, A. 2010. Kesehatan Lingkungan Edisi Revisi. *Kencana Prenada Media Group*, Jakarta.

Suparjo. 2008. Saponin, Peran dan Pengaruhnya bagi Ternak dan Manusia. [Karya Tulis Ilmiah]. Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Jambi.

Supiyanti, W., Wulansari, E.D. and Kusmita, L., 2010. Uji aktivitas antioksidan dan penentuan kandungan antosianin total kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), pp.64-70.

War, A.R., Paulraj, M.G., Ahmad, T., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ignacimuthu, S. and Sharma, H.C., 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior*, 7(10), pp.1306-1320.

Wardani, R.S. and Yokorinanti, K., 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Tembelekan (*Lantana canara*) terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 6(2).

Windarini, L.G.E., Astuti, K.W. and Warditiani, N.K., 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, pp.1-8.

World Health Organization, 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides.

World Health Organization, 2009. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition.

World Health Organization, 2011. Who specifications and evaluations for public health pesticides: temephos.

Yunita, E.A., Suparpti, N.H. and Hidayat, J.W.. 2009. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, 11(1), pp.11-17.

