

**EFEK EKSTRAK ETANOL KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)  
SEBAGAI BIOLARVASIDA LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* INSTAR III  
MELALUI KERUSAKAN MEMBRAN**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh:**

**Abdullah Bakhrudinsyah Kusuma Wardana**

**155070101111041**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

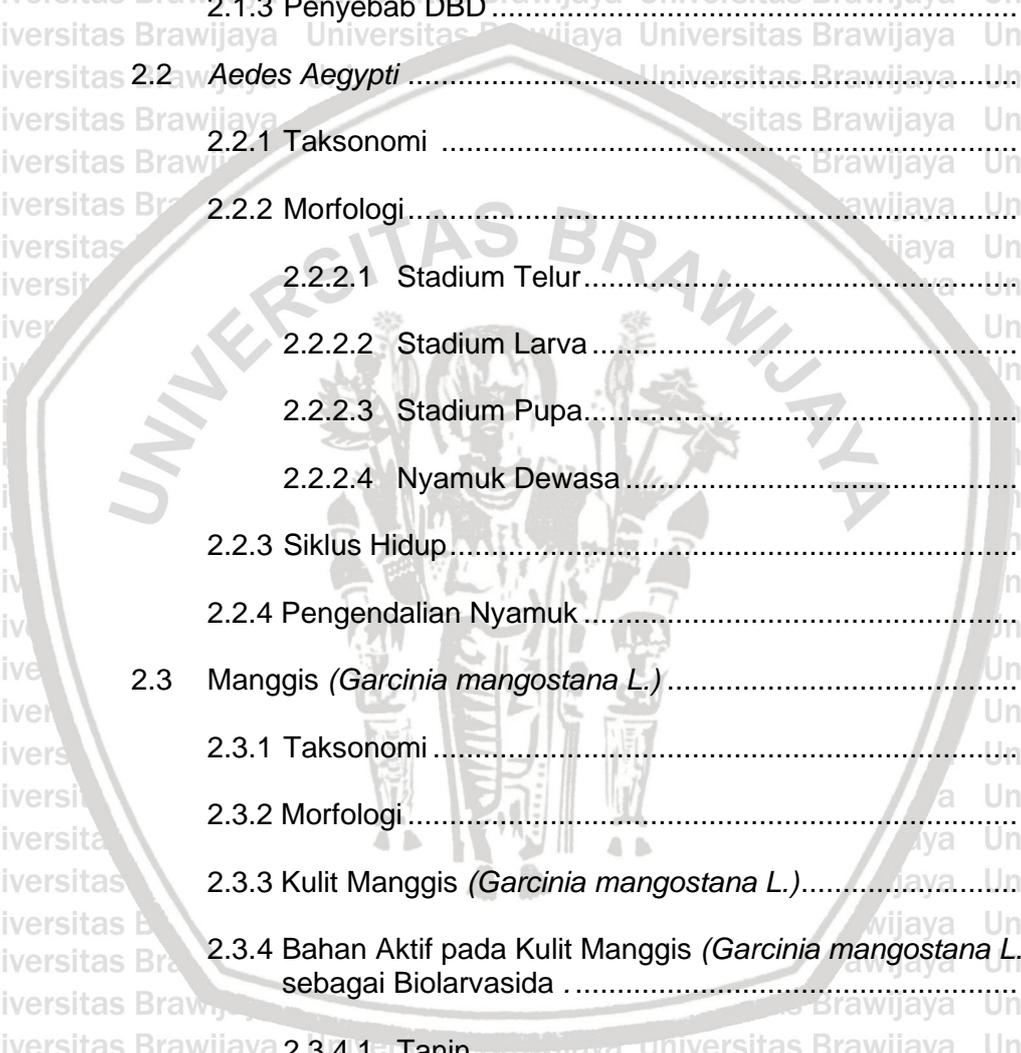
**2019**



<b>DAFTAR ISI</b>		
	<b>Halaman</b>	
HALAMAN JUDUL.....		i
HALAMAN PENGESAHAN .....		ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....		iii
KATA PENGANTAR .....		iv
ABSTRAK.....		vi
ABSTRACT .....		vii
DAFTAR ISI.....		viii
DAFTAR GAMBAR.....		xiii
DAFTAR TABEL.....		xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....		xv
DAFTAR SINGKATAN .....		xvii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>		
1.1 Latar Belakang.....		1
1.2 Rumusan Masalah.....		3
1.2.1 Sub 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 Teoritis.....		4
1.4.2 Manfaat Praktis.....		4

**BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

2.1	Demam Berdarah Dengue .....	5
2.1.1	Definisi DBD .....	5
2.1.2	Epidemiologi DBD.....	5
2.1.3	Penyebab DBD .....	7
2.2	<i>Aedes Aegypti</i> .....	8
2.2.1	Taksonomi .....	8
2.2.2	Morfologi.....	9
2.2.2.1	Stadium Telur.....	9
2.2.2.2	Stadium Larva .....	10
2.2.2.3	Stadium Pupa.....	11
2.2.2.4	Nyamuk Dewasa .....	12
2.2.3	Siklus Hidup.....	13
2.2.4	Pengendalian Nyamuk .....	14
2.3	Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ) .....	16
2.3.1	Taksonomi .....	16
2.3.2	Morfologi .....	17
2.3.3	Kulit Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ).....	17
2.3.4	Bahan Aktif pada Kulit Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ) sebagai Biolarvasida .....	18
2.3.4.1	Tanin .....	18
2.3.4.2	Flavonoid .....	19
2.3.4.3	Saponin.....	20
2.4	Abate ( <i>Temephos</i> ) .....	20
2.5	<i>Flow cytometry</i> .....	22
2.6	Propidium Iodide (PI) pada Deteksi Kerusakan Membran.....	24

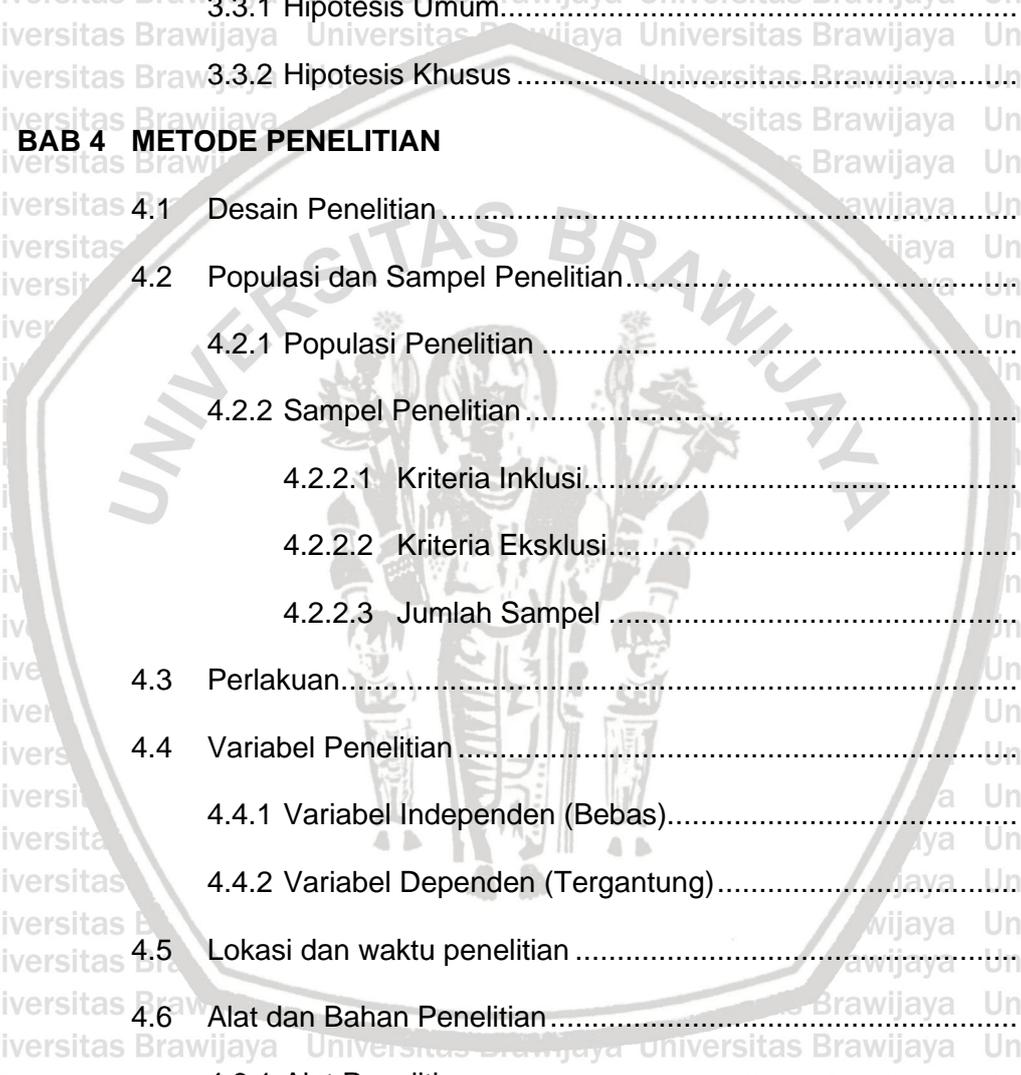


**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1	Kerangka Konsep .....	25
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep .....	26
3.3	Hipotesis Penelitian .....	27
3.3.1	Hipotesis Umum .....	27
3.3.2	Hipotesis Khusus .....	27

**BAB 4 METODE PENELITIAN**

4.1	Desain Penelitian .....	28
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian .....	28
4.2.1	Populasi Penelitian .....	28
4.2.2	Sampel Penelitian .....	28
4.2.2.1	Kriteria Inklusi .....	28
4.2.2.2	Kriteria Eksklusi .....	29
4.2.2.3	Jumlah Sampel .....	29
4.3	Perlakuan .....	30
4.4	Variabel Penelitian .....	30
4.4.1	Variabel Independen (Bebas) .....	30
4.4.2	Variabel Dependen (Tergantung) .....	30
4.5	Lokasi dan waktu penelitian .....	31
4.6	Alat dan Bahan Penelitian .....	31
4.6.1	Alat Penelitian .....	31
4.6.2	Bahan-bahan Penelitian .....	32
4.7	Definisi Operasional .....	32
4.8	Prosedur Penelitian .....	33
4.8.1	Ekstraksi Kulit Manggis .....	33





4.8.2	Evaporasi Hasil Ekstrak Kulit Manggis .....	34
4.8.3	Pembuatan Larutan Ekstrak dengan Berbagai Konsentrasi .....	35
4.8.4	Metode Uji Bahan Aktif.....	36
4.9	Cara Kerja Penelitian .....	37
4.10	Alur Penelitian.....	38
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA</b>		
5.1	Hasil Uji Bahan Aktif.....	39
5.1.1	Uji Tanin .....	39
5.1.2	Uji Flavonoid .....	40
5.1.3	Uji Saponin .....	40
5.2	Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ) terhadap Jumlah Kematian Larva dan <i>Larvicidal activity</i> pada Setiap Kelompok Perlakuan .....	41
5.3	Hasil Pengamatan Kerusakan Membran.....	45
5.4	Hasil Analisis Data Jumlah Kematian Larva .....	47
5.4.1	Uji Distribusi Data .....	47
5.4.2	Uji Varian Data.....	47
5.4.3	Uji Kruskall Wallis .....	48
5.4.4	Uji Mann-Whitney.....	48
5.5	Hasil Analisis Data Kerusakan Membran .....	49
5.5.1	Uji Distribusi Data .....	49
5.5.2	Uji Varian Data.....	50
5.5.3	Uji Kruskall Wallis .....	50
5.5.4	Uji Mann-Whitney.....	50

**BAB 6 PEMBAHASAN**

6.1	Ekstrak Etanol Kulit Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ) sebagai Biolarvasida terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III.....	52
-----	---	----

6.2	Mekanisme Kerusakan Membran Akibat Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.) sebagai Biolarvasida terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III.....	55
6.3	Keterbatasan Penelitian .....	57
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
7.1	Kesimpulan.....	58
7.2	Saran.....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>59</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>63</b>



**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**EFEK EKSTRAK ETANOL KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*)  
SEBAGAI BIOLARVASIDA LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* INSTAR III  
MELALUI KERUSAKAN MEMBRAN**

Oleh :

**Abdullah Bakhrudinsyah Kusuma Wardana  
155070101111041**

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 4 Desember 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I



dr. Dewi Santosaningsih, M.Kes., Ph.D  
NIP: 197103291998022001

Pembimbing-I/Penguji-II



Agustina Tri Engharti, S.Si., Ph.D  
NIP: 196906191998022001

Pembimbing-II/Penguji-III



dr. Ristian Muji Laksono, Sp.An.KMN  
NIP: 197506122002121001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Kedokteran



dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)  
NIP: 196310221996012001

## ABSTRAK

Wardana, Abdullah.B.K. 2019. **Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Sebagai Biolarvasida Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan Membran.** Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si., Ph.D (2) dr. Ristiawan Muji Laksono, Sp.An.KMN.

*Aedes aegypti* merupakan vektor Demam Berdarah Dengue (DBD). Pengendalian vektor menjadi hal penting dalam mencegah dan mengurangi terjadinya penularan penyakit yaitu dengan memutus siklus hidup pada tempat pertumbuhannya. Salah satu cara pengendalian vektor yang sering digunakan yaitu menggunakan abate. Namun penggunaan abate secara berulang dapat menyebabkan resistensi, sehingga diperlukan adanya alternatif lain untuk menggantikan abate berupa biolarvasida. Salah satunya dengan memanfaatkan kulit manggis yang diketahui mengandung bahan aktif seperti tanin, flavonoid dan saponin yang memiliki kemampuan untuk membunuh larva. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan membran. Penelitian ini menggunakan *true experimental-post test only control group design*. Sebanyak 500 larva dijadikan sebagai sampel dan terbagi menjadi lima kelompok perlakuan: kelompok kontrol negatif (air sumur), kontrol positif (abate 1%), dan ekstrak kulit manggis dengan berbagai konsentrasi (0,5%, 1%, dan 2%). Kematian larva diamati setelah 24 jam. Pada ekstrak 2% mempunyai hasil *larvicidal activity* paling tinggi. Kerusakan membran diamati dengan menggunakan *flow cytometry* dengan pewarnaan propidium iodide (PI). Hasil pewarnaan PI pada *flow cytometry* menunjukkan adanya kerusakan membran yang ditandai dengan terbentuknya fluoresens merah pada hasil *flow cytometry*. Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai signifikansi  $p=0,002$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki pengaruh sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, biolarvasida, *Garcinia mangostana L.*, instar III, kerusakan membran.

## ABSTRACT

Wardana, Abdullah.B.K. 2019. **Effects of Mangosteen Peel Ethanol Extract (*Garcinia mangostana L.*) as Biolarvicide of *Aedes aegypti* Instar III Larvae Through Membrane Damage**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si., Ph.D (2) dr. Ristiawan Muji Laksono, Sp.An.KMN.

*Aedes aegypti* is a vector of dengue hemorrhagic fever (DHF). Vector control is important in preventing and reducing the occurrence of DHF transmission by breaking the life cycle at their habitat. One of the frequently used methods is the using of abate. However, repeated use of abate causes resistance. So, mosquito biological control was needed to replace the use of abate. By using mangosteen peel (*Garcinia mangostana L.*) which is known to contain active ingredients such as tannins, flavonoids and saponins that are able to kill larvae. The purpose of this study was to investigate the effect of mangosteen peel extract as biolarvicide of *Aedes aegypti* instar III through membrane damage. The study design used in this research was true experimental post-test only control group design. A total of 500 larvae were sampled and divided into five groups: negative control group (well water), positive control (abate 1%), and different concentrations of mangosteen peel extract (0.5%, 1% and 2%), respectively. Larval mortality was observed after 24 hours. The extract of 2% mangosteen peel showed the highest *larvicidal effect*. Membrane damage was observed using *flow cytometry* with propidium iodide (PI) staining. The staining showed membrane damage characterized by the formation of red fluorescent in the results of *flow cytometry*. Data analysis using *Kruskal-Wallis* test was showed a significance ( $p=0.002$ ). It can be concluded that the ethanol extract of mangosteen peel has an effect as biolarvicide of *Aedes aegypti* instar III.

Keywords: *Aedes aegypti*, biolarvicide, *Garcinia mangostana L.*, instar III, membrane damage.

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue, dengan gambaran klinis demam tinggi mendadak, lemah/lesu, trombositopenia, gejala pendarahan, dan dapat menimbulkan *shock* hingga kematian (Kemenkes, 2011). Penyakit ini banyak ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Data dari seluruh dunia menunjukkan Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita DBD setiap tahunnya. Sementara itu, terhitung sejak tahun 1968 hingga tahun 2009, World Health Organization (WHO) mencatat negara Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara (Rasyada dkk., 2014).

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor DBD. Pengendalian vektor menjadi salah satu hal penting dalam mencegah dan mengurangi terjadinya penularan penyakit, yaitu dengan memutus siklus hidup pada tempat-tempat pertumbuhannya. Larva *Aedes aegypti* sering ditemukan pada air jernih yang tergenang (Sahrir, 2016). Larva *Aedes aegypti* memiliki 4 tingkatan pertumbuhan larva (instar) yaitu instar I berukuran paling kecil dan instar IV berukuran paling besar. Larva yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva instar III. Larva instar III dapat dianggap 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).

Sejauh ini pengendalian vektor umumnya dilakukan menggunakan insektisida sintesis atau larvasida sintesis. Larvasida merupakan senyawa dari golongan insektisida yang dapat membunuh larva serangga. Salah satu cara pengendalian vektor yang sering digunakan masyarakat adalah dengan menggunakan abate (*temephos*). Abate merupakan salah satu larvasida golongan senyawa organofosfat yang dapat masuk dan termakan melalui mulut. Abate mempunyai cara kerja menghambat enzim *cholinesterase* sehingga hidrolisis asetilkolin tidak terjadi menyebabkan asetilkolin tertimbun di ujung saraf pada *neuromuscular junction*, sehingga terjadi kontraksi otot yang terus-menerus, kejang dan akhirnya larva akan mati (Kemabonta dan Nwankwo, 2013).

Penggunaan abate sebagai larvasida dimulai sejak tahun 1976 dan sejak 1980 abate telah digunakan secara massal untuk program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia. Namun, penggunaan abate secara berulang dapat menimbulkan resistensi (Mulyatno dkk., 2012).

Salah satu usaha untuk mengatasi masalah resistensi tersebut adalah dengan cara menemukan insektisida alami yang lebih efektif terhadap pertumbuhan larva *Aedes aegypti*. Penggunaan larvasida alami atau biolarvasida dianggap aman karena memanfaatkan tanaman yang bersifat racun terhadap larva nyamuk (Borah dkk., 2012).

Salah satu tanaman yang bisa digunakan untuk dikembangkan sebagai biolarvasida adalah kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*), karena mengandung beberapa senyawa aktif seperti tanin, flavonoid dan saponin (Puspitasari dkk., 2013). Senyawa tanin bekerja dengan cara menghambat proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan larva dengan menurunkan aktivitas enzim dalam sistem pencernaan (Haditomo, 2010). Senyawa flavonoid bekerja

sebagai racun pernapasan (Nugroho dkk., 2014). Senyawa saponin dapat merusak membran larva *Aedes aegypti* (Yunita dkk., 2009).

Berdasarkan uraian diatas, penulis melakukan penelitian terkait efek larvasida ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dalam mempengaruhi kematian larva *Aedes aegypti* Instar III melalui kerusakan membran.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mempunyai efek biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* Instar III melalui kerusakan membran?

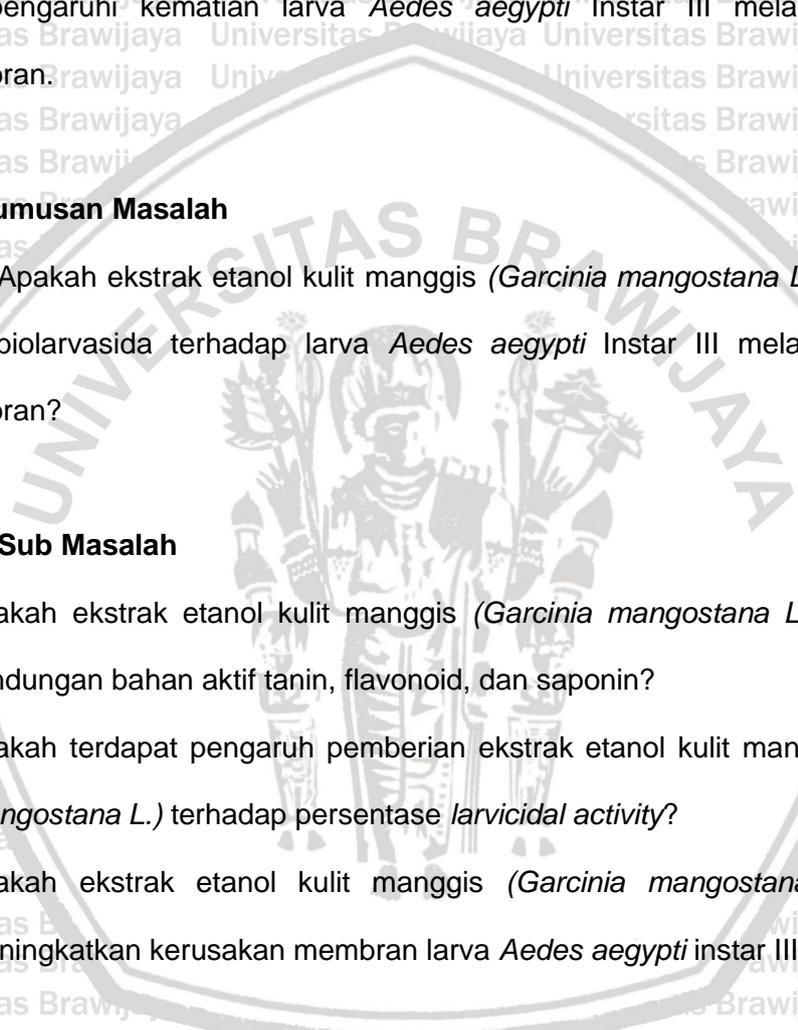
### 1.2.1 Sub Masalah

1. Apakah ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mempunyai kandungan bahan aktif tanin, flavonoid, dan saponin?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap persentase *larvicidal activity*?
3. Apakah ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mampu meningkatkan kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III?

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek biolarvasida ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap larva *Aedes aegypti* Instar III melalui kerusakan membran.



### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan adanya kandungan bahan aktif tanin, flavonoid dan saponin pada ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*).
2. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap persentase *larvicidal activity*.
3. Membuktikan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mampu meningkatkan kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III pada berbagai konsentrasi.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi sebagai dasar ilmiah atau referensi bahwa ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dapat digunakan sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan penggunaan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai pilihan utama biolarvasida oleh masyarakat dalam upaya pemberantasan penyakit DBD.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Demam Berdarah Dengue (DBD)

##### 2.1.1 Definisi DBD

Demam berdarah dengue atau *dengue hemorrhagic fever* (DHF) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dengan manifestasi klinis demam, nyeri otot, lemah/lesu, dan atau nyeri sendi yang disertai leukopenia, trombositopenia, atau gejala pendarahan pada kulit berupa *petechiae*, *ecchymosis* atau *purpura*, kadang-kadang mimisan, berak darah, muntah darah yang dapat menyebabkan renjatan (*shock*) hingga kematian.

Pada DBD terjadi perembesan plasma yang ditandai dengan hemokonsentrasi (peningkatan hematokrit) atau penumpukan cairan di rongga tubuh (Suhendro dkk., 2009).

##### 2.1.2 Epidemiologi DBD

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dan endemis di sebagian kabupaten/kota di Indonesia (Kemenkes, 2011). Seiring dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk, jumlah penderita dan luas daerah penyebarannya semakin bertambah. Di Indonesia, DBD pertama kali ditemukan di Surabaya pada tahun 1968, dimana sebanyak 58 orang terinfeksi dan 24 orang diantaranya meninggal dunia, dengan angka kematian mencapai 41,3%. Sejak saat itu, penyakit ini menyebar luas ke seluruh wilayah Indonesia (Kemenkes, 2010).

Pada tahun 2017 jumlah kasus DBD yang dilaporkan sebanyak 68.407 kasus dengan jumlah kasus meninggal sebanyak 493 orang. Jumlah kasus DBD dan jumlah kasus meninggal tahun 2017 mengalami penurunan dibandingkan jumlah kasus DBD dan jumlah kasus meninggal tahun 2016. *Incidence rate* (IR) atau angka kesakitan DBD pada tahun 2017 lebih rendah yaitu 26,12 per 100.000 penduduk dibandingkan angka kesakitan DBD tahun 2016 sebesar 78,86 per 100.000 penduduk. Berikut tren angka kesakitan DBD selama kurun waktu 2008-2017.



**Gambar 2.1 Angka Kesakitan Demam Berdarah Dengue per 100.000 Penduduk Tahun 2008-2017 (Kemenkes, 2018)**

Pada tahun 2008, IR (*incidence rate*) DBD dengan jumlah 59,02 per 100.000 penduduk. Di tahun selanjutnya, IR DBD tahun 2009 mengalami peningkatan dengan IR DBD 68,22 per 100.000 penduduk. Kemudian terjadi penurunan dan peningkatan IR DBD pada tahun 2010-2015. Pada tahun 2016 IR DBD meningkat dengan IR DBD 78,85 per 100.000 penduduk dan terlihat terdapat penurunan pada tahun 2017 dengan IR DBD 26,12 per 100.000 penduduk.

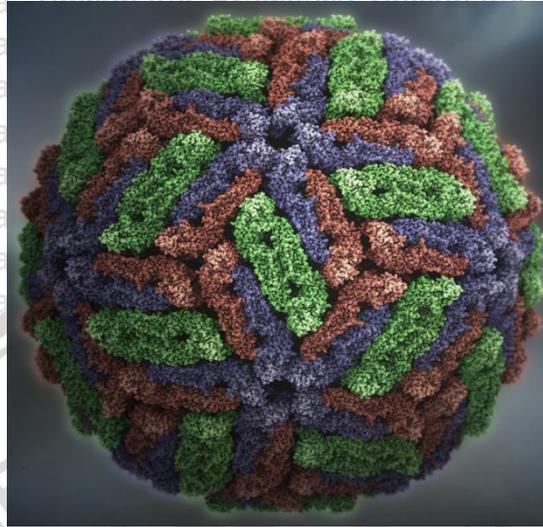


Penyakit DBD masih menyebar luas di seluruh wilayah Kota Malang. Dalam kurun waktu tahun 2012 hingga 2017 masih didapatkan sejumlah kasus DBD di Kota Malang. Pada tahun 2012 terdapat 136 kasus DBD, tahun 2013 meningkat menjadi 409 kasus dan pada tahun 2014 menurun menjadi 160 kasus. *Incidence rate* (IR) atau angka kesakitan DBD pada tahun 2013 mencapai 48,62 per 100.000 penduduk dan pada tahun 2014 mencapai 18,89 per 100.000 penduduk (Dinkes Kota Malang, 2015). Pada tahun 2015 terdapat 298 kasus DBD di Kota Malang, pada tahun 2016 meningkat menjadi 464 kasus dan pada tahun 2017 terdapat 105 kasus. *Incidence rate* (IR) atau angka kesakitan DBD pada tahun 2016 mencapai 54,18 per 100.000 penduduk, angka kesakitan ini meningkat jika dibandingkan dengan tahun 2015 yang angka kesakitannya mencapai 35,01 per 100.000 penduduk (Dinkes Kota Malang, 2018).

### 2.1.3 Penyebab DBD

Penyakit dengue disebabkan oleh virus dengue, yang merupakan golongan *arthropod borne virus (arbovirus)*, famili *Flaviviridae*, genus *flavivirus*. Virus berukuran kecil (50 nm) ini memiliki single stranded RNA. Virion dengue terdiri dari nukleokapsid dan terbungkus dalam amplop lipoprotein. Virus dengue mempunyai 4 jenis serotipe yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Masing-masing serotipe mempunyai subtipe (strain) yang ditemukan di berbagai wilayah Indonesia. Hasil penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa DEN-3 sangat berkaitan dengan kasus DBD berat dan merupakan serotipe yang paling luas distribusinya disusul oleh DEN-2, DEN-1, dan DEN-4 (Kemenkes, 2011). Penularan virus dengue terjadi melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* betina. Nyamuk *Aedes* yang paling banyak menyebabkan demam dengue dan demam berdarah dengue adalah

*Aedes aegypti* L. dan *Aedes albopictus* (WHO, 2003).



**Gambar 2.2 Virus Dengue (Sgro, 2012)**

Virus dengue merupakan virus RNA golongan arbovirus (*arthropod borne virus*)

## 2.2 *Aedes aegypti*

### 2.2.1 Taksonomi

Klasifikasi nyamuk *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut (ITIS, 2018):

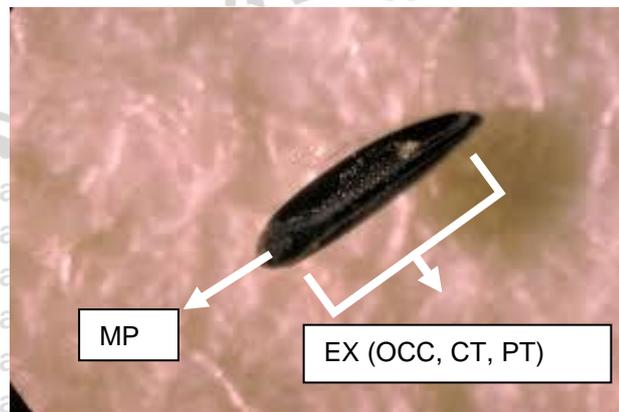
- Kingdom* : Animalia
- Phylum* : Arthropoda
- Class* : Insecta
- Ordo* : Diptera
- Subordo* : Nematocera
- Family* : Culicidae
- Subfamily* : Culicinae
- Genus* : *Aedes*
- Species* : *Aedes aegypti* L.

## 2.2.2 Morfologi

### 2.2.2.1 Stadium Telur

Nyamuk *Aedes aegypti* betina rata-rata dapat menghasilkan 100 butir telur setiap kalinya dan akan menetas menjadi larva dalam waktu 1-2 hari dalam keadaan telur terendam air. Telur *Aedes aegypti* berwarna hitam, bentuk oval, kulit tampak garis-garis yang menyerupai sarang lebah, dengan panjang 0,80 mm, berat 0,0010-0,015 mg (Depkes RI, 2008).

Nyamuk *Aedes aegypti* meletakkan telurnya satu per satu pada permukaan air, biasanya pada tepi air di tempat-tempat penampungan air bersih dan di atas permukaan air. Telur pada tempat kering (tanpa air) dapat bertahan sampai 6 bulan. Telur-telur ini kemudian akan menetas menjadi jentik setelah sekitar 1-2 hari terendam air (Herms, 2006). Telur *Aedes aegypti* tidak memiliki pelampung. Pada permukaan luar dinding sel tersebar suatu struktur sel yang disebut *outer chorionic cell* yang terdiri dari *central tubercle* dan *perifer tubercle*. Pada salah satu ujung telur terdapat poros yang disebut dengan *micropyles* yang berfungsi sebagai tempat masuknya *spermatozoid* ke dalam telur sehingga dapat terjadi pembuahan (Suman dkk., 2011).

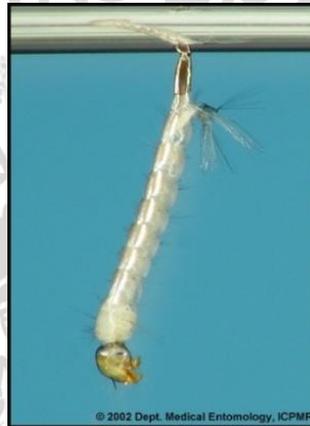


**Gambar 2.3 Telur *Aedes aegypti***

MP: *Micropyles*; EX: *exochorion*; OCC: *Outer Chorionic Cell*; CT: *Central Tubercle*; PT: *Peripheral Tubercle* (Herms, 2006)

### 2.2.2.2 Stadium Larva

Larva nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai ciri khas memiliki *siphon* yang pendek, besar dan berwarna hitam. Larva ini tubuhnya langsing dan memanjang tanpa kaki dengan bulu-bulu sederhana tersusun bilateral simetris, bergerak sangat lincah, bersifat fototaksis negatif dan pada waktu istirahat membentuk sudut hampir tegak lurus dengan permukaan air. Larva menuju permukaan air secara berulang-ulang guna mendapatkan oksigen untuk bernapas. Larva *Aedes aegypti* dapat berkembang menjadi pupa selama 6-8 hari (Herms, 2006).



**Gambar 2.4 Larva *Aedes aegypti***

Tubuh larva memanjang tanpa kaki dengan bulu-bulu sederhana yang tersusun bilateral simetris (CDC, 2002)

Ada empat tingkatan perkembangan (instar) larva sesuai dengan pertumbuhan larva:

1. Larva instar I; berukuran 1-2 mm, tubuh sangat kecil, warna transparan, *siphon* transparan, duri-duri (*spinae*) pada dada belum begitu jelas, tumbuh menjadi larva instar II dalam 1 hari.
2. Larva instar II; berukuran 2,5-3,5 mm, *siphon* agak kecoklatan, tumbuh menjadi larva instar III dalam 1-2 hari.

3. Larva instar III; berukuran 4-5 mm, *siphon* sudah berwarna coklat kehitaman, *spinae* pada dada mulai terlihat jelas, tumbuh menjadi larva instar IV dalam 2 hari.
4. Larva instar IV; berukuran 5-7 mm, telah lengkap struktur anatominya, tubuh dapat dibagi menjadi bagian kepala (*caput*), dada (*thorax*), dan perut (*abdomen*). *Spinae* pada dada tampak jelas, tumbuh menjadi pupa dalam 2-3 hari. Umur rata-rata pertumbuhan larva hingga pupa berkisar 5-8 hari (Depkes RI, 2008).



**Gambar 2.5 Larva *Aedes aegypti***

Morfologi larva *Aedes aegypti*; kepala (a), dada (b), perut (c), siphon (d) (Richard, 2000).

### 2.2.2.3 Stadium Pupa

Pada stadium pupa terdiri dari 2 bagian, yaitu kepala dada (*cephalothorax*) dan abdomen. Bentuk tubuh membengkok. Pupa tidak memerlukan makan dan akan berubah menjadi dewasa dalam waktu 2-4 hari. Dalam pertumbuhannya terjadi proses pembentukan sayap, kaki dan alat kelamin (Depkes RI, 2007).

Pupa berbentuk koma, gerakan lambat, dan sering di permukaan air. Pada pupa terdapat kantong udara yang terletak diantara bakal sayap nyamuk dewasa dan terdapat sepasang sayap pengayuh yang saling menutupi sehingga

memungkinkan pupa untuk menyelam cepat. Bentuk nyamuk dewasa terjadi setelah robeknya selongsong pupa oleh gelembung udara karena gerakan aktif pupa. Pupa bernafas pada permukaan air melalui sepasang struktur seperti terompet yang kecil pada *thorax* (Aradilla, 2009).



**Gambar 2.6 Pupa Nyamuk *Aedes aegypti***  
Pupa berbentuk koma dan bergerak lambat (CDC, 2000)

#### 2.2.2.4 Nyamuk Dewasa

Tubuh nyamuk dewasa terdiri dari 3 bagian, yaitu kepala (*caput*), dada (*thorax*) dan perut (*abdomen*). Badan nyamuk berwarna hitam memiliki bercak dan garis-garis putih yang tampak pada bagian kaki dari nyamuk *Aedes aegypti*. Pada bagian kepala terpasang sepasang mata majemuk, sepasang antena dan sepasang palpi, antena berfungsi sebagai organ peraba dan pembau. Pada nyamuk betina antena berbulu pendek dan jarang (tipe pilose). Sedangkan pada nyamuk jantan antena berbulu panjang dan lebat (tipe plumose). Thorax terdiri dari tiga ruas, yaitu prothorax, mesothorax, dan methathorax. Pada bagian thorax terdapat 3 pasang kaki dan pada ruas kedua (mesothorax) terdapat sepasang sayap. Abdomen terdiri dari 8 ruas dengan bercak putih pada masing-masing ruas.

Pada ujung atau ruas terakhir terdapat alat kopulasi berupa cerci pada nyamuk betina dan hypogeum pada nyamuk jantan (Depkes RI, 2008).



**Gambar 2.7 Nyamuk *Aedes aegypti***

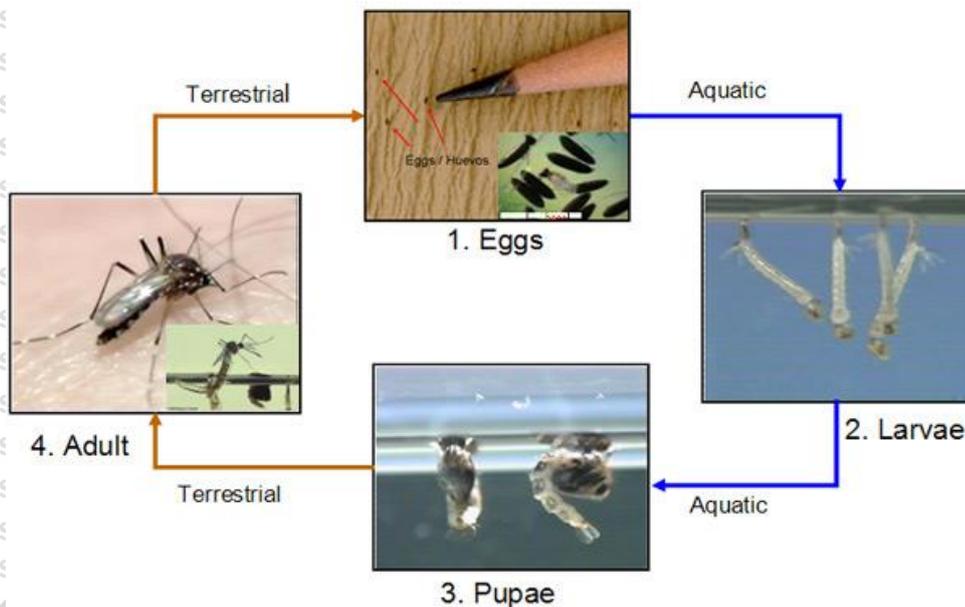
Nyamuk *Aedes aegypti* dikenal dengan sebutan *black white mosquito* atau *tiger mosquito* karena tubuhnya memiliki ciri yang khas, yaitu adanya garis-garis dan bercak-bercak putih di atas warna hitam (Doggett, 2003).

### 2.2.3 Siklus Hidup

Nyamuk *Aedes aegypti* mengalami metamorfosis sempurna, yaitu: telur-jentik (larva)-kepompong (pupa)-nyamuk (imago/dewasa). Stadium telur, larva, dan pupa hidup di dalam air. Pada umumnya telur akan menetas menjadi larva dalam waktu  $\pm$  2 hari setelah telur terendam air. Stadium larva biasanya berlangsung 5-8 hari, sedangkan stadium pupa berlangsung 2-4 hari.

Pertumbuhan dari telur menjadi nyamuk dewasa diperlukan waktu antara 9-12 hari.

Usia nyamuk betina dapat mencapai 2-3 bulan (Kemenkes, 2011).



**Gambar 2.8 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti***

Siklus perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dimulai saat telur keluar dari induk, kemudian menetas menjadi larva. Setelah melalui tahap perkembangan larva instar I-IV, kemudian bermetamorfosis menjadi pupa. Setelah 2-4 hari pupa berubah menjadi nyamuk dewasa yang siap melakukan siklus yang berulang lagi (CDC, 2009)

### 2.2.4 Pengendalian Nyamuk

Pemberantasan demam berdarah dengue (DBD) dengan melakukan pembasmian nyamuk *Aedes aegypti* yang berperan sebagai vektor DBD. Tujuan pengendalian vektor adalah untuk menurunkan atau menekan jumlah nyamuk.

Pengendalian nyamuk ini bisa dilakukan baik dengan pengendalian lingkungan, pengendalian secara biologis dan kimiawi.

#### a. Pengendalian nyamuk secara lingkungan

Salah satu langkah pertama yang bisa dilakukan untuk mengendalikan vektor DBD adalah dengan mengendalikan lingkungan terlebih dahulu.

Pengendalian secara lingkungan ini dilakukan dengan tujuan membatasi ruang nyamuk untuk berkembang biak, sehingga harapannya nyamuk pembawa virus dengue ini bisa berkurang dan menurun jumlahnya. Program 3M yaitu

menguras, menutup dan mengubur menjadi salah satu cara mengendalikan perkembangan nyamuk secara lingkungan (Kemenkes, 2018).

b. Pengendalian nyamuk secara biologis

Selain upaya pengendalian secara lingkungan, upaya secara biologis juga dilakukan yaitu dengan memanfaatkan hewan atau agen biologi seperti predator atau pemangsa, parasit dan bakteri. Cara yang dianggap efektif adalah dengan memelihara ikan cupang dan dimasukkan ke dalam tempat atau wadah penampungan air. Ikan cupang ini dapat memakan jentik-jentik nyamuk yang ada dalam tempat penampungan air. Dapat juga ditambahkan bakteri pemakan jentik nyamuk yang tidak mengganggu lingkungan yaitu *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Kemenkes, 2018).

c. Pengendalian nyamuk secara kimiawi

Cara pengendalian nyamuk yang ketiga yaitu dengan pengendalian secara kimiawi dengan menggunakan insektisida. Insektisida sintesis bersifat racun sehingga pemakaiannya harus mempertimbangkan dampak terhadap lingkungan dan organisme yang bukan sasaran. Insektisida sintesis yang biasa digunakan masyarakat berupa larvasida yaitu dengan menaburkan bubuk abate ke dalam tempat penampungan air yang dapat membunuh jentik-jentik nyamuk secara kimiawi. Pengendalian secara kimiawi juga dapat dilakukan dengan *fogging* atau pengasapan dengan menggunakan *malathion* dan *fenthion* yang berguna untuk mengurangi kemungkinan penularan *Aedes aegypti* sampai batas tertentu (Kemenkes, 2018).

### 2.3 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis di daerah Asia Tenggara meliputi Indonesia, Malaysia, Thailand dan Myanmar. Tanaman ini tumbuh subur pada daerah yang mendapat banyak sinar matahari, kelembapan tinggi, serta musim kering yang pendek (untuk menstimulasi perbungaan). Daerah dataran rendah biasanya dipilih untuk mendapatkan pertumbuhan maksimal dari pohon manggis (Darmawansyih, 2014; Nugroho, 2009). Manggis merupakan tanaman fungsional karena sebagian besar dari tanaman tersebut dapat dimanfaatkan, bukan hanya daging buahnya saja yang dapat dikonsumsi, namun menurut penelitian dalam kulit manggis juga terdapat sejumlah senyawa kimia yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Manggis terkenal dengan julukan “Queen of Tropical Fruits” yang merupakan refleksi dari keistimewaan manggis itu sendiri, perpaduan rasa manis dan asam serta memiliki nilai gizi yang tinggi sebagai sumber vitamin yang bermanfaat untuk tubuh (Darmawansyih, 2014).

#### 2.3.1 Taksonomi

Klasifikasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah sebagai berikut (ITIS, 2018):

**Kingdom** : Plantae

**Division** : Tracheophyta

**Class** : Magnoliopsida

**Ordo** : Malpighiales

**Family** : Clusiaceae

**Genus** : *Garcinia* L.

Spesies : *Garcinia mangostana* L.

### 2.3.2 Morfologi

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman musiman, pohon selalu hijau dengan tinggi 6-20 meter. Manggis mempunyai batang tegak, batang pohon jelas, kulit batang coklat, dan memiliki getah kuning. Daun tunggal, posisi daun berhadapan atau bersilang berhadapan, helai daun mengkilat di permukaan, permukaan atas hijau gelap permukaan bawah hijau terang, berbentuk elips memanjang, serta tangkai 1,5-2 cm. Bunga betina 1-3 di ujung batang, susunan menggarpu, mempunyai empat daun kelopak bunga, daun kelopak yang terluar hijau kuning, mempunyai empat daun mahkota dan berbentuk telur terbalik berwarna hijau kekuningan dengan tepi warna merah. Buah manggis berbentuk bola dengan daging buah berwarna putih yang memiliki cita rasa campuran manis dan asam. Dalam satu buah terdapat lima sampai enam daging buah. Mempunyai satu sampai tiga biji, selaput biji tebal berair, putih serta dapat dimakan. Kulit buah manggis berwarna merah keunguan karena mengandung antosianin (Darmawansyih, 2014; Nugroho, 2009).

### 2.3.3 Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Sejumlah penelitian lainnya menunjukkan bahwa komponen seluruh buah manggis yang paling besar adalah kulitnya, yakni 70-75%, sedangkan daging buahnya hanya 10- 15% dan bijinya 15-20% (Yatman, 2012).

Banyak metabolit sekunder yaitu senyawa kimia yang dihasilkan oleh tanaman manggis baik dari daun, kulit pohon, buah bahkan kulit manggis juga memiliki metabolit sekunder. Hasil penelitian menyebutkan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) mengandung tanin, flavonoid maupun saponin, zat

antioksidan yang dapat melawan radikal bebas. Sifat kimia senyawa tanin, flavonoid dan saponin juga dapat menghambat perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* pada beberapa siklus hidupnya (Soediby, 2000).

Kulit manggis merupakan bagian dari buah manggis yang juga memiliki banyak manfaat. Khususnya dalam penelitian ini kulit manggis memiliki kandungan zat kimia yang mempunyai efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Kandungan kimia kulit manggis yaitu tanin, flavonoid dan saponin (Soediby, 2000).



**Gambar 2.9 Kulit Buah Manggis**  
Kulit manggis yang digunakan sebagai ekstrak (Soediby, 2000)

### 2.3.4 Bahan Aktif pada Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai

#### Biolarvasida

##### 2.3.4.1 Tanin

Tanin adalah senyawa astringen yang terkandung dalam tumbuhan, mempunyai rasa sepat/pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin mempunyai mekanisme pertahanan bagi tumbuhan untuk membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan. Senyawa tanin bekerja sebagai larvasida dengan cara menghambat proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan larva dengan

mengikat protein dalam sistem pencernaan sehingga diperkirakan proses pencernaan larva akan terganggu (Haditomo, 2010). Tanin juga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti amilase dan protease (Ahdiyah dan Purwani, 2015).

Menurut Pramudita dkk. (2014) secara menyeluruh senyawa tanin menurun selama proses pematangan dan pendewasaan manggis. Secara umum tanin mencapai kandungan tertinggi pada waktu masih muda dan menurun setelah tua.

Untuk mendapatkan kadar tanin yang optimum, pada penelitian Pramudita dkk. menggunakan dua sampel yaitu kulit manggis muda dan tua. Ekstrak kulit manggis pada penelitian Pramudita dkk. menggunakan metode maserasi dengan temperatur 60°C selama 3 jam. Kandungan tanin pada ekstrak kulit manggis muda lebih besar dibanding ekstrak kulit manggis tua. Dengan perbandingan massa dan pelarut 1:10 didapatkan kandungan tanin dalam ekstrak kulit manggis muda sebesar 28,05 mg/100 gram.

#### 2.3.4.2 Flavonoid

Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) menunjukkan adanya komponen bioaktif seperti flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai *respiratory inhibitor*, yang masuk ke dalam tubuh larva melalui saluran pernapasan (*siphon*), kemudian menimbulkan kerusakan pada saraf sistem pernapasan sehingga terjadi paralisis, akhirnya larva tidak dapat bernapas dan mati (Cania dan Setyaningrum, 2013).

Menurut Hasan dkk. (2016) kondisi optimal untuk ekstraksi flavonoid dapat dicapai dengan mengubah empat faktor, yaitu konsentrasi pelarut, suhu, rasio bahan baku (zat terlarut) terhadap pelarut dan waktu ekstraksi (durasi pemanasan).

Hal ini juga berlaku untuk senyawa bahan aktif yang lainnya. Kondisi ekstraksi yang berbeda dapat menghasilkan jumlah flavonoid yang berbeda. Dalam penelitian Hasan dkk., konsentrasi etanol dan durasi pemanasan dioptimalkan untuk mendapatkan tingkat flavonoid optimal dari kulit manggis. Dengan etanol 70% dan durasi pemanasan 20 menit didapatkan persentase flavonoid 11,15%.

#### 2.3.4.3 Saponin

Saponin adalah senyawa glikosida yang dapat ditemukan pada beberapa jenis tanaman. Saponin terdiri dari sapogenin yaitu bagian bebas dari derivat glikosida. Karena sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka saponin bersifat amfifilik. Dengan demikian saponin sebagai bahan yang mirip detergen mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan protein dan lipid penyusun membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein dan lipid mengalami perubahan. Akibatnya tegangan permukaan menurun sehingga merusak membran dan kemudian terjadi peningkatan permeabilitas pada membran sehingga menyebabkan larva kehilangan banyak cairan dan meningkatkan penetrasi senyawa toksik lainnya ke dalam tubuh larva (Muta'ali dan Purwani, 2015; Yunita dkk., 2009).

#### 2.4 Abate (*Temephos*)

Abate merupakan salah satu bentuk insektisida yang digunakan untuk membunuh telur dan larva nyamuk *Aedes aegypti*. Abate yang biasa digunakan berbentuk butiran pasir (*sand granules*) dan ditaburkan di tempat yang biasa digunakan untuk menampung air. Abate berbentuk kristal putih dengan titik lebur 30-30,5°C dan mudah terdegradasi apabila terkena sinar matahari sebab bersifat

mengabsorpsi sinar ultraviolet (Nugroho, 2013). Dosis yang biasa digunakan adalah 1 gram (1 ppm) untuk 10 liter air. Bahan kimia ini tidak menyebabkan perubahan rasa, warna dan bau pada air yang diberi perlakuan. Namun dalam keadaan wabah yang memerlukan pemberantasan secara cepat, maka larvasida ini tidak bisa diharapkan sebagai pembunuh yang hebat (efektif) untuk bisa menurunkan kepadatan populasi secara cepat (Dwi, 2013).

Abate banyak digunakan untuk pengendalian vektor dengue karena biaya yang murah dan dapat diterima oleh masyarakat. Pada tahun 1980, abate ditetapkan sebagai salah satu program nasional dalam upaya melakukan pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia. Namun karena penggunaannya yang luas dan sudah digunakan dalam jangka waktu yang lama, resistensi *Aedes aegypti* terhadap abate banyak dilaporkan pada beberapa negara seperti Amerika, Brazil, Kuba, Argentina, Peru, Kolombia, Thailand, dan Indonesia, yaitu di Surabaya, Banjarbaru dan Banjarmasin (Grisales dkk., 2013; Jiranjanakit, 2007; Rahardjo, 2006; Mulyatno, 2012).

Menurut WHO (1992) resistensi terhadap suatu insektisida adalah kemampuan nyamuk dalam populasi untuk bertahan hidup terhadap dosis toksik, dimana pada dosis tersebut dapat membunuh pada mayoritas suatu populasi spesies nyamuk yang sama. Mekanisme terjadinya resistensi insektisida tersebut dapat dijelaskan dengan teori evolusi. Ketika suatu lokasi menggunakan suatu insektisida yang telah digunakan dalam jangka waktu yang lama, nyamuk yang peka/rentan akan mati, sebaliknya nyamuk yang tidak peka/rentan akan tetap melangsungkan hidupnya. Paparan insektisida yang terus menerus menyebabkan nyamuk beradaptasi sehingga jumlah nyamuk yang kebal akan bertambah.

Nyamuk yang kebal tersebut dapat menurunkan sifat resistensinya kepada

generasi selanjutnya. Sehingga semakin lama jumlah nyamuk yang peka/rentan akan berkurang dan akan menyisakan nyamuk yang resisten (Ridha dan Nisa, 2011).

Pada nyamuk yang mengalami resistensi akan ditemukan tingginya enzim detoksikasi untuk menetralkan metabolit insektisida salah satunya untuk golongan organofosfat adalah esterase non spesifik. Esterase non spesifik mulai meningkat menunjukkan sedang terjadinya aktifitas detoksikasi oleh nyamuk dalam usahanya bertahan hidup terhadap efek toksik organofosfat. Mekanisme resistensi melalui peningkatan enzim detoksikasi disebut dengan resistensi metabolik yang sering terjadi pada beberapa insektisida seperti golongan organofosfat. Resistensi terhadap abate terutama disebabkan oleh peningkatan aktivitas esterase non spesifik pada nyamuk yang berperan dalam menghidrolisis ikatan ester abate (Handayani dkk., 2016).

Abate merupakan salah satu larvasida golongan senyawa organofosfat yang dapat masuk melalui kulit, terhirup lewat pernapasan dan termakan lewat mulut (Dwi, 2013). Abate mempunyai cara kerja menghambat enzim *cholinesterase* sehingga hidrolisis asetilkolin tidak terjadi dan menyebabkan kontraksi otot yang terus-menerus kemudian terjadi kejang dan akhirnya larva akan mati (Nugroho dkk., 2014; WHO, 2011).

## 2.5 Flow Cytometry

*Flow cytometry* adalah suatu alat yang mampu menganalisis karakteristik fisik multipel suatu sel, baik ukuran, kompleksitas sel, maupun simultan granularitasnya sesuai gambaran sel yang disuspensi melalui alat ukur. *Flow cytometry* dapat diaplikasikan berdasarkan penemuan membran, sitoplasma dan

antigen nuklear. Kemudian keseluruhan sel dan komponen sel meliputi organela, nukleus, DNA, RNA, kromosom, sitokin, hormon dan konten protein dapat dianalisis (Adan dkk., 2016).

Prinsip kerja dari *flow cytometry* adalah penyebaran cahaya dan emisi fluoresens ketika cahaya dari sumber eksitasi (umumnya sinar laser) mengenai partikel. Komponen utama dari sistem *flow cytometry* dan pemilahan sel adalah *fluidics*, optik, jaringan elektronik (detektor), dan komputer. *Fluidics* memiliki peranan dalam mengarahkan cairan berpartikel ke sumber cahaya. Komponen optik terbagi menjadi dua yaitu eksitasi dan koleksi. Komponen eksitasi berperan dalam memfokuskan sumber cahaya ke partikel sedangkan peranan komponen koleksi adalah mentransmisikan sebaran cahaya serta *fluorescent light* dari partikel ke jaringan elektronik atau detektor. Detektor kemudian akan mendeteksi sinyal dan mengubahnya menjadi data digital yang proporsional dengan intensitas cahaya. Data digital tersebut kemudian dianalisis menggunakan *software* komputer (Adan dkk., 2016).

Didalam *flow cytometry*, suspensi sel yang telah dibuat sebelumnya akan tertarik oleh aliran fluida yang membentuk aliran laminar, dan mesin akan melewatkan satu per satu sel yang ada dalam suspensi tersebut pada suatu titik tertentu, dimana pada titik tersebut akan ditembakkan cahaya monokromatik yang pada umumnya berupa laser. Cahaya laser yang terpendar ke berbagai arah akan ditangkap dengan suatu alat optik yang mengarahkan cahaya tersebut ke sebuah *dichroic filter*, dimana hanya cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang bisa melewati filter ini. Cahaya yang telah melewati filter tersebut akan ditangkap oleh *photomultiplier tubes*, dan diubah menjadi sinyal listrik, yang

kemudian akan dikirim ke komputer untuk dianalisis. Hasil yang diterima oleh komputer biasanya berupa histogram (Brown dan Wittwer, 2000).

Prinsip analisis data *flow cytometry* adalah menentukan *cells of interest* dengan metode *gating*. Metode ini memberi kesempatan kepada peneliti untuk melihat lebih dalam *cells of interest* dan menyingkirkan sel yang tidak ingin diteliti atau sel debris. Aplikasi dari metode *gating* adalah *ploting* dengan FSC (*Forward scatter*) dan SSC (*side scatter*). Penentuan populasi yang akan diteliti lebih lanjut dapat didasarkan pada FSC dan SSC dengan melihat ukuran sel serta kompleksitas sel. Metode ini adalah metode yang paling umum digunakan tetapi bersifat subjektif (Adan dkk., 2016).

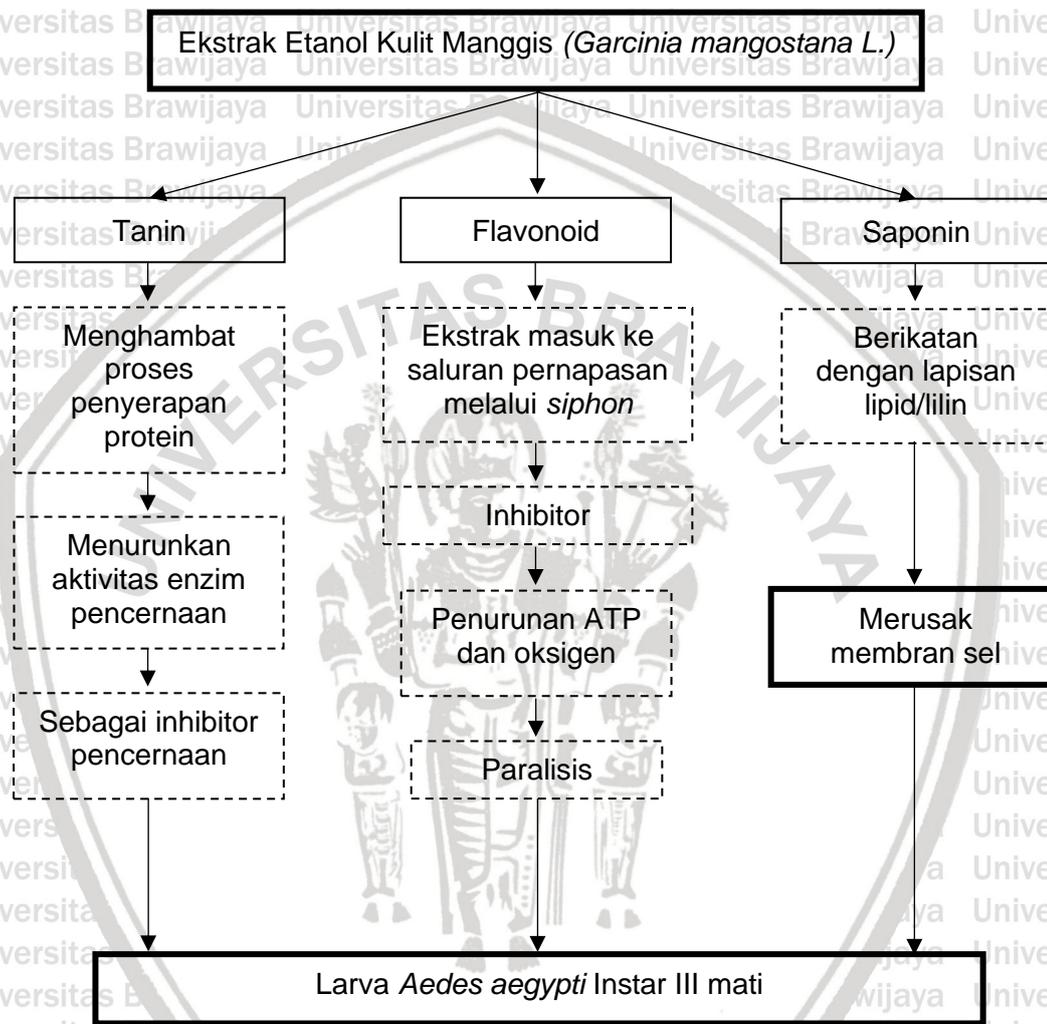
## 2.6 Propidium Iodide (PI) pada Deteksi Kerusakan Membran

*Flow cytometry* dapat digunakan untuk mendeteksi sel yang mengalami hilangnya integritas dan permeabilitas membran serta kematian sel dengan *propidium iodide* (PI). PI adalah molekul fluoresens kecil yang berikatan dengan DNA. Sel yang mengalami kematian dan kerusakan sel akan menjadi permeabel terhadap PI, sedangkan sel yang *viable* tidak. Protokol untuk parameter PI ini dapat digunakan untuk menghitung kematian sel. Kemampuan PI untuk masuk ke dalam sel dan mewarnai sel tergantung pada integritas membran sel, PI tidak dapat memasuki sel yang sehat atau pada awal apoptosis karena membran sel yang masih intak. Pada sel yang mengalami nekrosis, terjadi penurunan integritas membran sel dan *nuclear membrane*, memungkinkan PI untuk masuk ke dalam sel dan berikatan dengan asam nukleat sehingga menghasilkan fluoresens berwarna merah (Rieger dkk., 2011).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

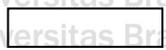
Keterangan:



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



: Variabel yang dibuktikan

### 3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Pada ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) didapatkan zat aktif berupa tanin, flavonoid, dan saponin. Tiga zat aktif tersebut merupakan senyawa yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

Jumlah kandungannya berbanding lurus dengan konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasinya, semakin tinggi pula zat aktif yang terkandung didalamnya.

Senyawa tanin bekerja sebagai larvasida dengan cara menghambat proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan larva dengan mengikat protein dalam sistem pencernaan sehingga diperkirakan proses pencernaan larva akan terganggu. Tanin juga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti amilase dan protease.

Kandungan flavonoid akan masuk ke dalam tubuh larva melalui *siphon* dan menimbulkan kerusakan pada sistem pernapasan. Kemudian menimbulkan kerusakan pada saraf sistem pernapasan sehingga terjadi paralisis, akhirnya larva tidak dapat bernapas dan mati.

Saponin sebagai bahan yang mirip detergen mempunyai kemampuan untuk merusak membran. Saponin dapat membentuk busa apabila berinteraksi dengan lapisan lipid/lilin kutikula yang berfungsi sebagai *barrier* pada membran. Kemudian terjadi peningkatan permeabilitas pada membran sehingga menyebabkan larva kehilangan banyak cairan dan meningkatkan penetrasi senyawa toksik ke dalam tubuh larva.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

#### 3.3.1 Hipotesis Umum

Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) memiliki efek biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.

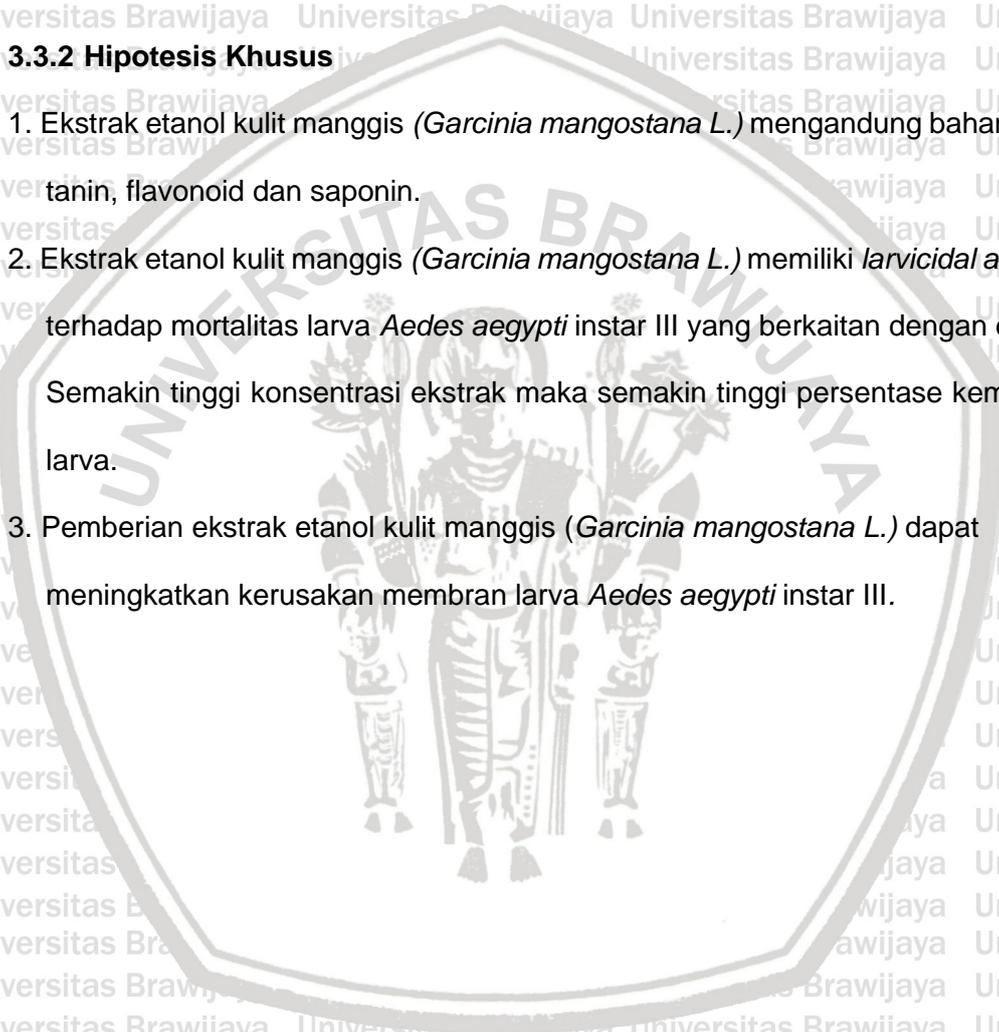
#### 3.3.2 Hipotesis Khusus

1. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mengandung bahan aktif tanin, flavonoid dan saponin.

2. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) memiliki *larvicidal activity* terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III yang berkaitan dengan dosis.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi persentase kematian larva.

3. Pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dapat meningkatkan kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui *larvacidal activity* ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Pada kelompok perlakuan kontrol (-) menggunakan air sumur, karena air sumur merupakan habitat alami nyamuk dalam melakukan proses metamorfosis. Sedangkan kelompok kontrol (+) menggunakan abate 1%.

### 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti*.

#### 4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

##### 4.2.2.1 Kriteria Inklusi

Larva *Aedes aegypti* instar III dengan ukuran larva 4-5 mm.

#### 4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

Larva *Aedes aegypti* instar III yang mati dan gerakannya kurang aktif atau kurang berespons saat disentuh.

#### 4.2.2.3 Jumlah Sampel

Sampel penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol positif (diberi abate 1%), 1 kelompok kontrol negatif (air sumur tanpa diberi ekstrak), dan 3 kelompok perlakuan diberi ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2%.

Jumlah larva dalam setiap kelompok berdasarkan pedoman WHO yaitu menggunakan 25 larva (WHO, 2005).

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

Penentuan pengulangan eksperimen berdasarkan rumus (Solimun, 2001):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 15+5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

$n$  = jumlah pengulangan tiap perlakuan

$p$  = jumlah perlakuan/kelompok coba

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 ekor setiap perlakuan x 5 kelompok x 4 pengulangan= 500 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III

### 4.3 Perlakuan

Terdapat 5 kelompok perlakuan dalam penelitian ini, yaitu:

#### 1. Perlakuan I

Direndam dengan air sumur sebagai kontrol negatif

#### 2. Perlakuan II

Direndam abate konsentrasi 1% sebagai kontrol positif

#### 3. Perlakuan III

Direndam ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%

#### 4. Perlakuan IV

Direndam ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 1%

#### 5. Perlakuan V

Direndam ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 2%

### 4.4 Variabel Penelitian

#### 4.4.1 Variabel Independen (Bebas)

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

#### 4.4.2 Variabel Dependen (Tergantung)

Variabel dependen (tergantung) penelitian ini adalah jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati setelah direndam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*).

#### 4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol kulit manggis dilakukan di Polinema Malang, dan penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Januari 2018.

#### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) serta alat-alat yang digunakan untuk uji potensi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

1. Alat untuk pembuatan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.): blender, tabung untuk merendam kulit manggis yang sudah diblender, saringan, kertas saring, gelas ekstraksi (botol), neraca analitik, klem statis, oven, timbangan, dan seperangkat alat evaporasi vakum; yang terdiri dari: 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*) dan pipa plastik.
2. Alat untuk uji potensi ekstrak kulit manggis: gelas plastik 250 ml, handcounter, pipet tetes, kertas saring, timbangan ekstrak, sendok lab, tabung ukur, termometer, pH stick, stopwatch, object glass, dan mikroskop.

#### 4.6.2 Bahan–bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk 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.

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

#### 4.7 Definisi Operasional

1. Kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang didapatkan dari Materi Medica Batu.
2. Ekstraksi dan Evaporasi kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dilakukan di Polinema Malang dan menghasilkan ekstrak etanol kulit manggis berupa pasta.
3. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) diformulasikan menjadi 3 konsentrasi, yaitu konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% dengan cara pengenceran menggunakan pelarut air sumur yang dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Pembuatan abate 1% sebagai kontrol positif yaitu dengan menimbang abate sebanyak 0,4 gram menggunakan neraca digital kemudian ditambahkan air sumur 40 ml sebagai pelarutnya.
5. Kontrol negatif diambil dari air sumur melalui keran air di dalam Laboratorium Parasitologi.

6. Larva nyamuk yang dipilih adalah larva *Aedes aegypti* Instar III yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
7. 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 atau tidak berespons saat disentuh (WHO, 2005)
8. *Larvicidal activity* adalah daya yang dimiliki oleh ekstrak kulit manggis yang menyebabkan larva mati, dapat dilihat dari persentase mortalitas larva.

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

9. Kerusakan membran dilihat melalui *flow cytometry* dengan pewarnaan *propidium iodide* (PI) yang menghasilkan warna fluoresens merah.

#### 4.8 Prosedur Penelitian

##### 4.8.1 Ekstraksi Kulit Manggis

1. Bubuk manggis 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 selama kurang lebih 1 minggu.

#### 4.8.2 Evaporasi Hasil Ekstrak Kulit Manggis

1. Hasil dari ekstraksi kulit manggis selanjutnya akan dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak kulit manggis dengan pelarut etanol, didapat bahan berupa pasta 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 pada dengan vakum melalui selang plastik, dan dihubungkan pula dengan *waterpump* 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 aktif 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 ini 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 kulit manggis berupa cairan kental yang berwarna merah kecoklatan. Hasil inilah yang akan digunakan dalam percobaan.

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

#### 4.8.3 Pembuatan Larutan Ekstrak dengan Berbagai Konsentrasi

Larutan stok ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) 10% yang tersimpan dalam freezer dikeluarkan dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 15 menit. Untuk membuat ekstrak kulit manggis 2% digunakan rumus sebagai berikut:

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

Dengan :

M1 = konsentrasi larutan stok ekstrak kulit manggis (10%)

M2 = konsentrasi larutan yang diinginkan (2%)

V1 = volume larutan stok ekstrak kulit manggis 10% 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 etanol kulit manggis 2% diambil 10 ml untuk mendapatkan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% dan ditambahkan 30 ml air

sumur, sehingga diperoleh 40 ml ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%.

#### 4.8.4 Metode Uji Bahan Aktif

Uji bahan aktif digunakan untuk mengetahui kandungan bahan aktif pada ekstrak etanol kulit manggis. Pada penelitian ini dilakukan untuk menguji kandungan tanin, flavonoid, dan saponin pada ekstrak etanol kulit manggis.

##### 1. Uji Bahan Aktif Tanin

Uji bahan aktif tanin dilakukan dengan cara melarutkan 1 g ekstrak etanol kulit manggis dalam 10 ml aquades kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan ditambahkan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Warna biru kehitaman atau hijau kehitaman yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji tanin mengindikasikan adanya kandungan senyawa tanin dalam ekstrak (Windarini, 2013).

##### 2. Uji Bahan Aktif Flavonoid

Uji bahan aktif flavonoid dilakukan dengan cara mencampurkan 1 g ekstrak dengan 1 ml kloroform dan 1 ml aquades, kemudian dihomogenkan dan didiamkan, sehingga nantinya akan terbentuk lapisan air dibagian atas. Lapisan air tersebut diambil dan kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat lalu dikocok. Warna jingga yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji flavonoid mengindikasikan adanya kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak (Windarini, 2013).

##### 3. Uji Bahan Aktif Saponin

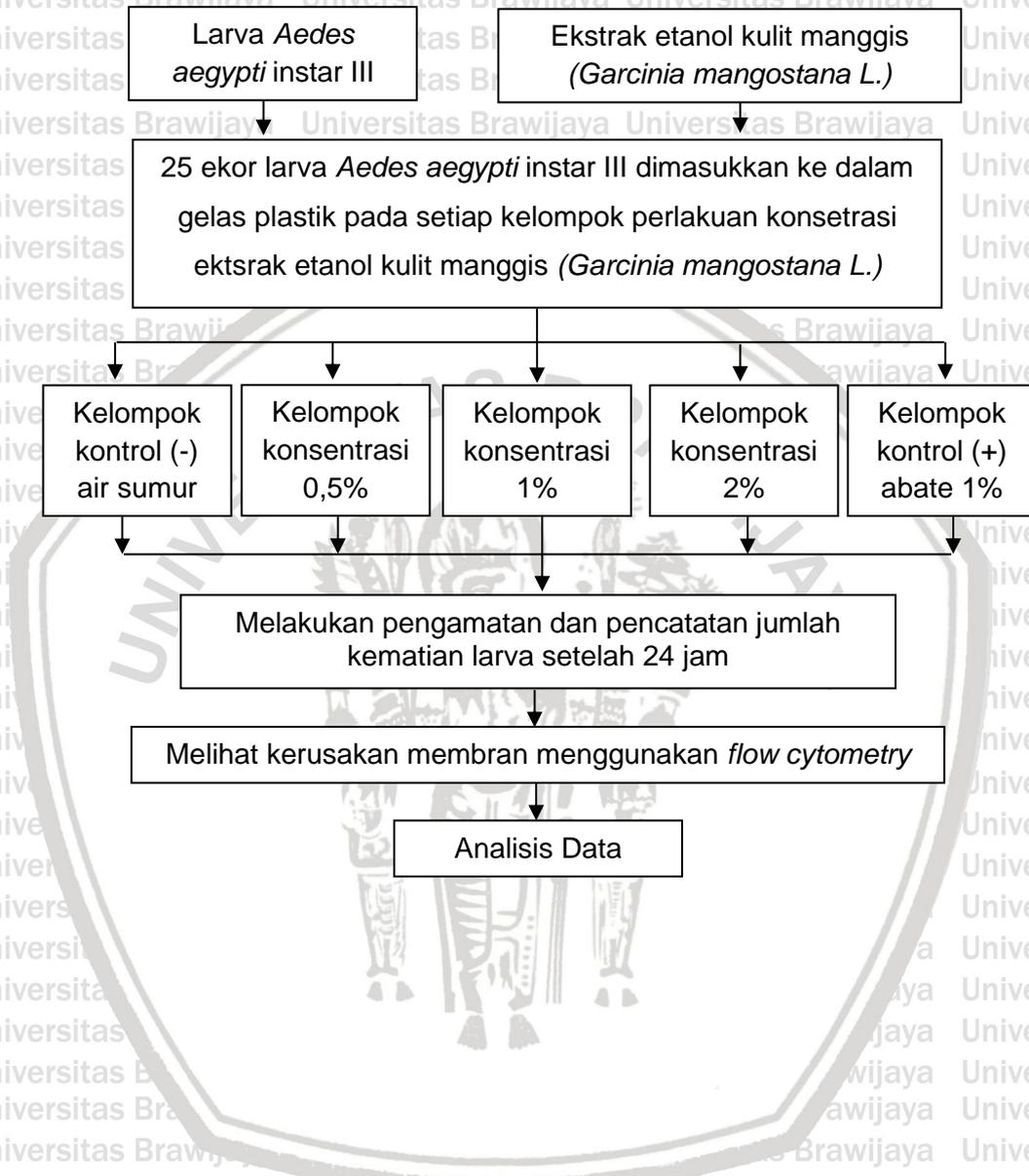
Untuk melakukan uji saponin dapat dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dengan 10 ml air panas kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik, sehingga

terbentuk buih. Kemudian tambahkan dengan HCl 2M lalu kocok dan akan tetap terbentuk buih yang stabil. Tambahkan 3 tetes olive oil akan menyebabkan terbentuknya emulsi. Buih yang stabil serta emulsi yang terbentuk pada larutan sebagai hasil akhir uji saponin mengindikasikan adanya kandungan senyawa saponin dalam ekstrak (Windarini, 2013).

#### 4.9 Cara Kerja Penelitian

1. Ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% dimasukkan ke dalam gelas plastik sesuai kelompok perlakuan.
2. Kelompok kontrol negatif diberi air sumur pada gelas plastik yang telah dikonfirmasi tidak mengandung bahan-bahan larvasida kimia dengan melakukan penelitian pendahuluan. Kelompok kontrol positif diberi abate 1%.
3. Kemudian larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam gelas plastik sesuai kelompok perlakuan.
4. Masing-masing perlakuan berisi 25 larva *Aedes aegypti* instar III dengan pengulangan 4 kali.
5. Pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dilakukan setelah 24 jam sejak diberi perlakuan.
6. Menilai kerusakan membran dengan *flow cytometry*.

#### 4.10 Alur Penelitian



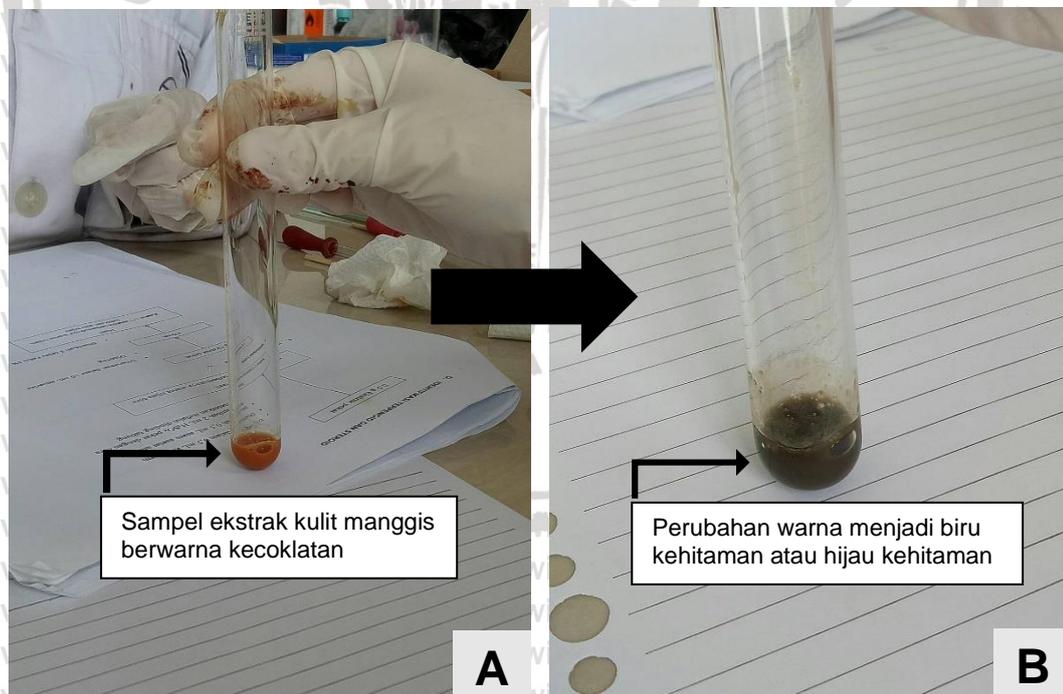
## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Uji Bahan Aktif

Uji bahan aktif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah terdapat bahan aktif tanin, flavonoid, dan saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang berfungsi sebagai biolarvasida.

## 5.1.1 Uji Tanin

Hasil uji bahan aktif tanin menunjukkan terdapat perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau kehitaman yang mengindikasikan sampel tersebut mengandung bahan aktif tanin (Windarini, 2013).

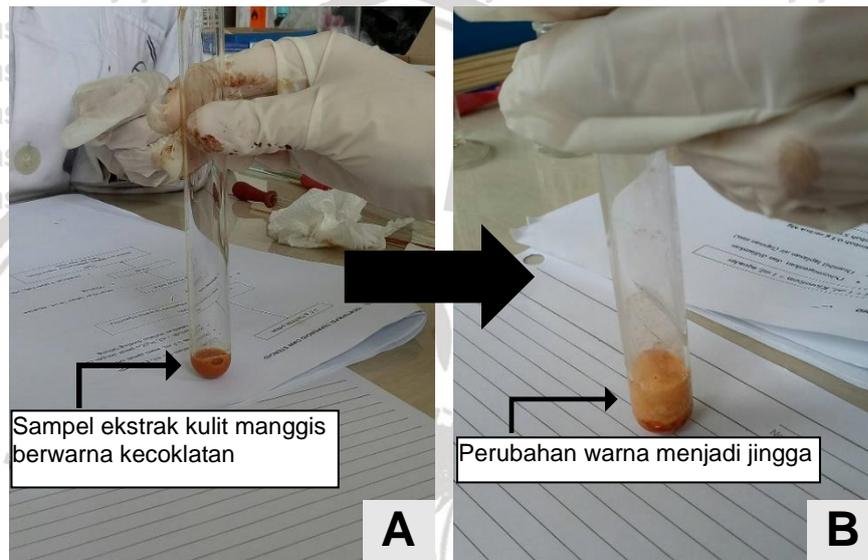


Gambar 5.1 Hasil Uji Bahan Aktif Tanin

Terjadi perubahan warna dari sampel berwarna kecoklatan (A), menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman (B)

### 5.1.2 Uji Flavonoid

Hasil uji bahan aktif flavonoid menunjukkan terdapat perubahan warna sampel ekstrak menjadi jingga setelah direaksikan dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Windarini, 2013).



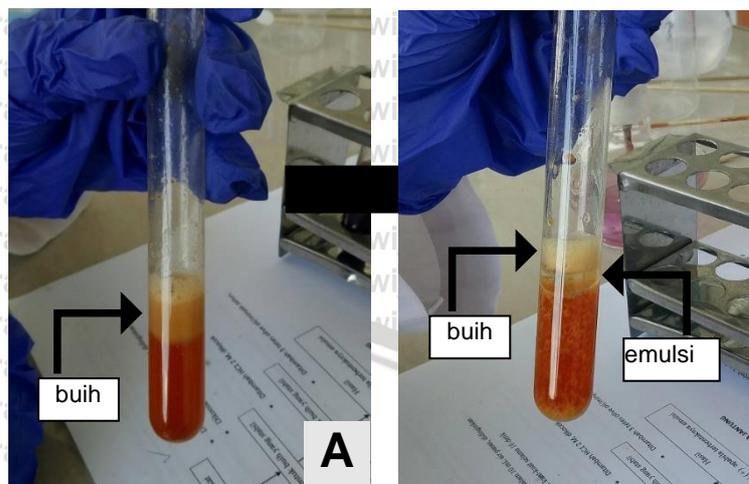
**Gambar 5.2 Hasil Uji Bahan Aktif Flavonoid**

Terdapat perubahan warna dari sampel berwarna coklat (A) menjadi berwarna jingga (B)

### 5.1.3 Uji Saponin

Hasil uji bahan aktif saponin menunjukkan terbentuknya buih/busa serta emulsi pada sampel coba setelah ditambahkan HCL 2M dan 3 tetes minyak zaitun.

Apabila terdapat buih/busa pada sampel dan busa tidak hilang selama  $\pm 10$  detik maka sampel tersebut mengandung bahan aktif saponin (Windarini, 2013).



**Gambar 5.3 Hasil Uji Bahan Aktif Saponin**

Sampel ekstrak kulit manggis setelah dilarutkan dalam 10 ml air panas, terbentuk buih (A). Sampel ekstrak kulit manggis yang ditambahkan HCl 2M dan olive oil terbentuk buih yang stabil dan emulsi pada sampel (B).

## 5.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis terhadap Jumlah Kematian

### Larva dan *Larvicidal Activity* pada Setiap Kelompok Perlakuan

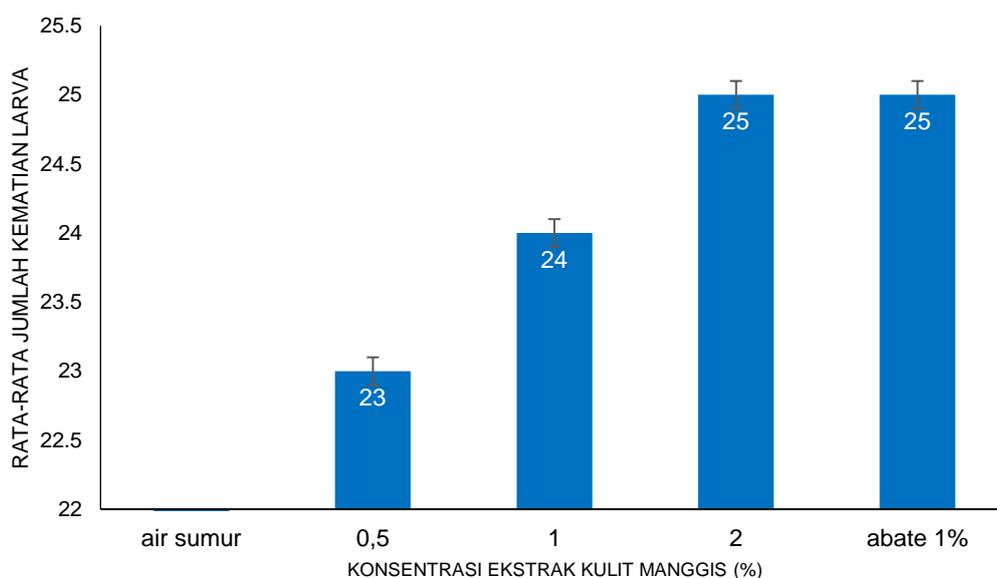
Hasil pengamatan pada penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III dengan mengamati jumlah larva yang mati dan *larvicidal activity* pada setiap kelompok perlakuan setelah 24 jam diberi perlakuan.

**Tabel 5.1 Rerata Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* Instar III dan Larvicidal Activity Setelah 24 Jam Perlakuan Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan Berbagai Konsentrasi**

PK	Ekstrak Etanol Kulit Manggis									
	Kontrol (-) (Air Sumur)		Ekstrak Etanol Kulit Manggis						Kontrol (+) (Abate 1%)	
			0,5%		1%		2%			
	Jumlah Kematian Larva	Larvicidal activity	Jumlah Kematian Larva	Larvicidal activity	Jumlah Kematian Larva	Larvicidal activity	Jumlah Kematian Larva	Larvicidal activity	Jumlah Kematian Larva	Larvicidal activity
1	0	0%	21	84%	24	96%	25	100%	25	100%
2	0	0%	24	96%	24	96%	25	100%	25	100%
3	0	0%	23	92%	23	92%	25	100%	25	100%
4	0	0%	23	92%	25	100%	25	100%	25	100%
Rerata ± SD	0 ± 0	0% ± 0	23 ± 1.26	91% ± 0,05	24 ± 0,82	96% ± 0,03	25 ± 0	100% ± 0	25 ± 0	100% ± 0

Keterangan: PK= pengulangan ke

Berdasarkan tabel 5.1 didapatkan pada kelompok perlakuan 0,5% ekstrak etanol kulit manggis rata-rata jumlah kematian larva sebanyak 23 larva. Dengan meningkatnya konsentrasi pemberian ekstrak etanol kulit manggis rata-rata jumlah kematian larva juga meningkat, pada kelompok 1% ekstrak etanol kulit manggis sebanyak 24 larva mati dan pada kelompok 2% ekstrak etanol kulit manggis sebanyak 25 larva mati. Sedangkan pada kelompok perlakuan kontrol negatif tidak didapatkan larva yang mati. Pada kelompok kontrol positif didapatkan larva yang mati sebanyak 25 larva.

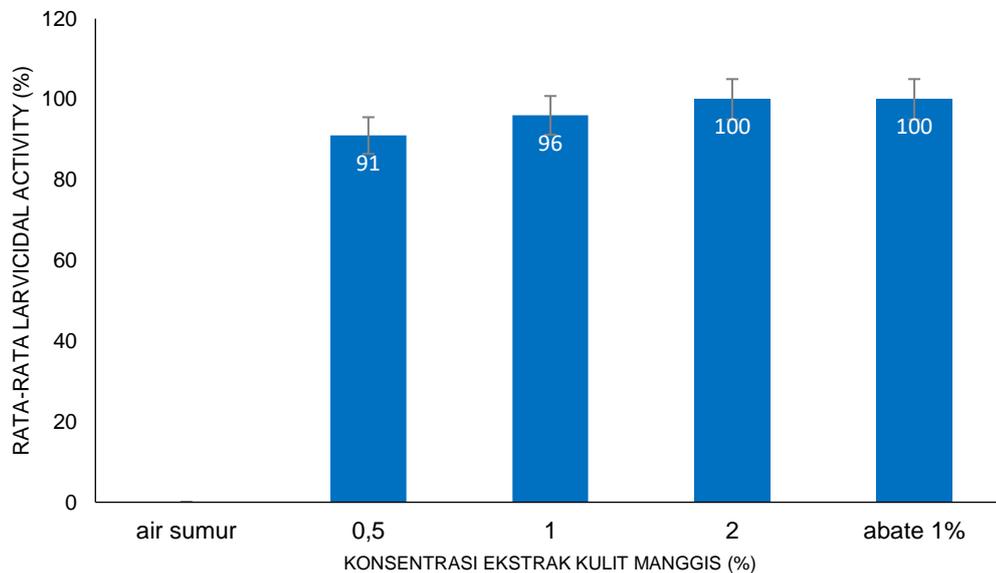


**Gambar 5.4 Rerata Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* instar III Setelah 24 Jam pada Setiap Kelompok Perlakuan**

Pada gambar 5.4 menunjukkan grafik peningkatan rata-rata jumlah kematian larva sebanding dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis.

Grafik ini menggambarkan rata-rata jumlah kematian larva pada setiap kelompok perlakuan setelah 24 jam yang dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan.

Uji *larvicidal activity* bertujuan untuk melihat persentase kematian larva setelah diberi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus persentase mortalitas larva, didapatkan hasil seperti pada tabel 5.1 bahwa persentase rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 2% dan kelompok kontrol positif dengan persentase sebesar 100%. Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 1% rata-rata kematian larva sebanyak 96%, untuk kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% kematian larva sebanyak 91%. Sedangkan rata-rata kematian larva terendah terdapat pada kelompok perlakuan kontrol negatif sebanyak 0%.



**Gambar 5.5 Larvicidal Activity Setelah 24 Jam**

Berdasarkan gambar 5.5 diketahui bahwa grafik peningkatan *larvicidal activity* berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit

manggis (*Garcinia mangostana L.*). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula persentase *larvicidal activity*-nya. Dapat diketahui pada konsentrasi ekstrak 0,5% memiliki rerata kematian larva sebesar 91% dan konsentrasi ekstrak 1% rerata kematian larva sebesar 96%. Pada konsentrasi ekstrak 2% dan abate 1% memiliki rerata kematian larva yang sama yaitu 100%.

### 5.3 Hasil Pengamatan Kerusakan Membran

Pewarnaan propidium iodide (PI) dengan *flow cytometry* dilakukan untuk melihat adanya kerusakan membran sel. PI akan berikatan dengan DNA. Sel yang mengalami kematian dan kerusakan sel akan menjadi permeabel terhadap PI, sehingga menghasilkan fluoresens berwarna merah. Berikut hasil pewarnaan PI pada masing-masing kelompok perlakuan.

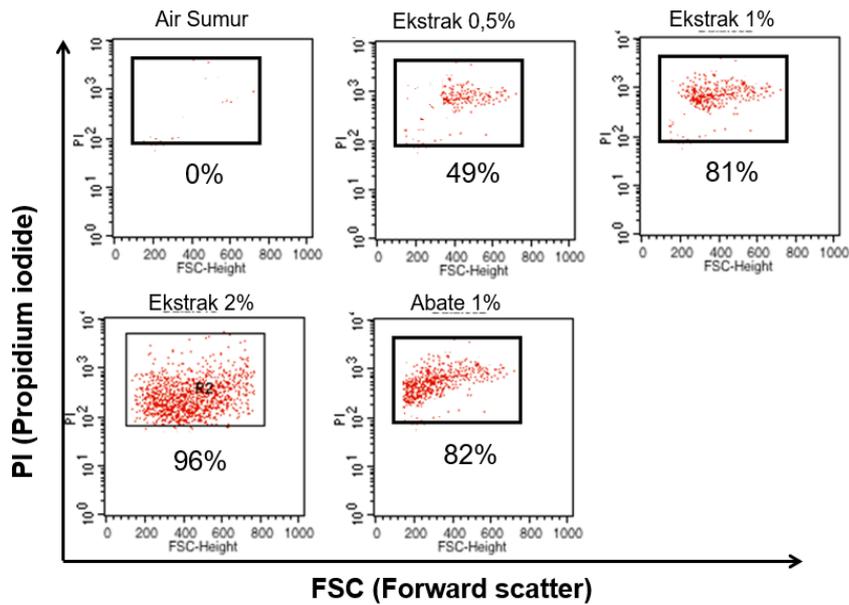
**Tabel 5.2 Rerata Hasil Pewarnaan PI (%) pada Setiap Kelompok Perlakuan Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan Berbagai Konsentrasi**

Pengulangan Ke	Perlakuan				
	Air sumur	0,5%	1%	2%	Abate 1%
1	0	54	79	96	80
2	0	45	84	98	85
3	0	47	82	94	83
4	0	50	80	95	81
Rerata ± SD	0±0	49±3,916	81±2,217	96±1,708	82±2,217

Berdasarkan pewarnaan PI dengan *flow cytometry* didapatkan hasil seperti tabel 5.2 bahwa rata-rata kerusakan membran pada setiap kelompok perlakuan tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak 2% dengan kerusakan membran sebesar 96%. Rata-rata kerusakan membran pada kelompok ekstrak 1% sebesar 81% dan



pada kelompok ekstrak 0,5% sebesar 49%. Sedangkan rata-rata kerusakan membran pada kelompok kontrol negatif sebesar 0% dan pada kelompok kontrol positif sebesar 82%.



Gambar 5.6 Hasil *Flow cytometry* Larva *Aedes aegypti* yang Mati

Berdasarkan gambar 5.6, dapat terlihat bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat adanya kerusakan pada membran sehingga didapatkan hasil *propidium iodide* (PI) 0% pada hasil *flow cytometry*. Hal ini menunjukkan jika PI akan terikat pada DNA dan memberikan hasil fluoresens merah hanya pada sel yang mengalami kerusakan membran, karena PI tidak bisa menembus membran yang masih utuh. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% terdapat kerusakan membran yang ditunjukkan melalui PI yang berwarna pada DNA larva dengan rata-rata yaitu 49%. Ekstrak dengan konsentrasi 1% menyebabkan kerusakan membran dengan rata-rata 81% serta pada ekstrak 2% PI yang berwarna menunjukkan rata-rata tertinggi dibanding kelompok perlakuan

yang lain yaitu sebanyak 96%. Sedangkan pada kelompok kontrol positif menunjukkan rata-rata sebesar 82%. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 2% mempunyai efektivitas merusak membran larva *Aedes aegypti* instar III yang lebih tinggi dibanding kelompok kontrol positif.

## 5.4 Hasil Analisis Data Jumlah Kematian Larva

### 5.4.1 Uji Distribusi Data

Sebelum dilakukan analisis, data yang didapatkan dari setiap perlakuan harus memenuhi syarat data terdistribusi normal. Sehingga untuk menguji kenormalitasan data digunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov test* yang menunjukkan nilai *Kolmogorov-Smirnov test* sebesar 1,756 dengan nilai signifikansi  $p = 0,004$  ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi normal.

### 5.4.2 Uji Varian Data

Selain diuji kenormalitasannya, data juga diuji kehomogenitasannya menggunakan *Levene test*. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai *Levene test* sebesar 3,558 dengan nilai signifikansi  $p = 0,031$  ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan data yang digunakan tidak homogen. Dilihat dari hasil uji normalitas dan homogenitas, maka data tidak memenuhi syarat untuk menggunakan uji *One Way ANOVA* dikarenakan data tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ) dan varian tidak homogen ( $p < 0,05$ ) sehingga data menggunakan analisis non-parametrik *Kruskal Wallis Test*.

### 5.4.3 Uji Kruskal Wallis

Dari uji *Kruskal Wallis*, didapatkan hasil nilai signifikansi  $p = 0,002$ . Oleh karena nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dengan pemberian ekstrak etanol kulit manggis terhadap rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III pada masing-masing kelompok perlakuan.

### 5.4.4 Uji Mann-Whitney

Uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan terhadap jumlah kematian larva antar kelompok perlakuan sehingga dapat diketahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan atau tidak dengan kelompok perlakuan lain. Apabila nilai signifikansi  $p > 0,05$  maka tidak didapatkan perbedaan signifikan jumlah kematian larva antar dua kelompok perlakuan dan apabila nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka didapatkan perbedaan signifikan jumlah kematian larva antar dua kelompok perlakuan.

**Tabel 5.3 Hasil Uji Mann-Whitney Jumlah Kematian Larva**

Kelompok Perlakuan	$p$	Makna
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	1,00	Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.4, didapatkan hasil 2 pasang kelompok perlakuan yang tidak menunjukkan beda yang signifikan ( $p > 0,05$ ) yaitu kelompok perlakuan ekstrak 0,5% dengan kelompok perlakuan ekstrak 1% ( $p = 0,129$ ) dan kelompok perlakuan ekstrak 2% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ( $p = 1,000$ ).

Sedangkan 8 pasang lainnya menunjukkan nilai signifikansi yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dari perbandingan antar 2 kelompok perlakuan yang berbeda. Nilai signifikansi antar kelompok perlakuan kontrol negatif dengan ekstrak 0,5% yaitu 0,013, pada kelompok perlakuan kontrol negatif dengan ekstrak 1% yaitu 0,013, kelompok perlakuan kontrol negatif dengan ekstrak 2% yaitu 0,008 serta kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kontrol positif yaitu 0,008. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekstrak 0,5% dengan ekstrak 2%  $p = 0,013$ , antara kelompok perlakuan ekstrak 0,5% dengan kontrol positif  $p = 0,013$ , antara kelompok perlakuan ekstrak 1% dengan ekstrak 2%  $p = 0,046$ , serta antara kelompok perlakuan ekstrak 1% dengan kontrol positif  $p = 0,046$ .

## 1.5 Hasil Analisis Data Kerusakan Membran

### 1.5.1 Uji Distribusi Data

Sebelum dilakukan analisis, data yang didapatkan dari setiap perlakuan harus memenuhi syarat data terdistribusi normal. Sehingga untuk menguji kenormalitasan data digunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov test* yang menunjukkan nilai *Kolmogorov-Smirnov test* sebesar 1,288 dengan nilai signifikansi  $p = 0,073$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

### 1.5.2 Uji Varian Data

Selain diuji kenormalitasannya, data juga diuji kehomogenitasannya menggunakan *Levene test*. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai *Levene test* sebesar 4,007 dengan nilai signifikansi  $p = 0,021$  ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan data yang digunakan tidak homogen. Dilihat dari hasil uji normalitas dan homogenitas, maka data tidak memenuhi syarat untuk menggunakan uji *One Way ANOVA* dikarenakan varian data tidak homogen ( $p < 0,05$ ) sehingga analisis data menggunakan analisis non-parametrik *Kruskal Wallis Test*.

### 5.5.3 Uji Kruskal Wallis

Dari uji *Kruskal Wallis*, didapatkan hasil nilai signifikansi  $p = 0,001$ . Oleh karena nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dengan pemberian ekstrak etanol kulit manggis terhadap rerata kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III pada masing-masing kelompok perlakuan.

### 5.5.4 Uji Mann-Whitney

Uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan terhadap kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III antar kelompok perlakuan sehingga dapat diketahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan atau tidak dengan kelompok perlakuan lain. Apabila nilai signifikansi  $p > 0,05$  maka tidak didapatkan perbedaan signifikan kerusakan membran antar dua kelompok perlakuan dan apabila nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka didapatkan perbedaan signifikan kerusakan membran antar dua kelompok perlakuan.

**Tabel 5.4 Hasil Uji Mann-Whitney Hasil PI pada Flow cytometry**

Kelompok Perlakuan	p	Makna
Kontrol negatif dengan 0,5%	0,029	Signifikan
Kontrol negatif dengan 1%	0,029	Signifikan
Kontrol negatif dengan 2%	0,029	Signifikan
Kontrol negatif dengan kontrol positif	0,029	Signifikan
0,5% dengan 1%	0,029	Signifikan
0,5% dengan 2%	0,029	Signifikan
0,5% dengan kontrol positif	0,029	Signifikan
1% dengan 2%	0,029	Signifikan
1% dengan kontrol positif	0,486	Tidak signifikan
2% dengan kontrol positif	0,029	Signifikan

Berdasarkan tabel 5.5, didapatkan hasil 1 pasang kelompok perlakuan yang tidak menunjukkan beda yang signifikan ( $p > 0,05$ ) yaitu kelompok perlakuan ekstrak 1% dengan kelompok perlakuan kontrol positif ( $p = 0,486$ ) Sedangkan 9 pasang lainnya menunjukkan nilai signifikansi yang bermakna ( $p < 0,05$ ) dari perbandingan antar 2 kelompok perlakuan yang berbeda yaitu sama pada semua kelompok perlakuan sebesar  $p = 0.029$ .

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III

Salah satu biolarvasida yang dapat digunakan yaitu kulit manggis. Hasil dari ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mengandung beberapa senyawa aktif seperti tanin, flavonoid dan saponin yang mampu membunuh larva nyamuk. Senyawa tersebut dapat mengganggu proses metabolisme, pertumbuhan bahkan dapat membunuh larva *Aedes aegypti* (Poeloengan dan Praptiwi, 2010).

Pada penelitian ini telah dilakukan uji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak etanol kulit manggis. Berdasarkan uji bahan aktif yang telah dilakukan, membuktikan bahwa terdapat kandungan tanin, flavonoid dan saponin dalam ekstrak etanol kulit manggis (Indarto, 2011).

Penelitian lain menyebutkan bahwa proses mendapatkan kandungan senyawa yang ada pada kulit manggis terbagi menjadi dua yaitu ekstraksi dan evaporasi. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Kemudian dilanjutkan uji skrining fitokimia menggunakan beberapa pereaksi kimia. Hasil akhir dari uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah manggis (*Gracinia mangostana L.*) mengandung bahan aktif tanin, flavonoid dan saponin (Windarini dkk., 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar

III. Berdasarkan penelitian ini, dilakukan pengamatan terhadap adanya kematian larva setelah 24 jam diberi perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (direndam dalam air sumur) tidak didapatkan kematian larva. Kematian larva ditandai dengan larva tidak dapat bergerak atau tidak berespons saat disentuh (WHO, 2005). Pada kelompok kontrol negatif larva tetap hidup semua karena dalam air sumur tidak didapatkan bahan aktif yang bersifat racun terhadap larva. Berbeda halnya pada kelompok ekstrak kulit manggis 0,5% terdapat rata-rata jumlah larva yang mati yaitu 23 larva, pada ekstrak 1% sejumlah 24 larva yang mati, dan pada ekstrak 2% sebanyak 25 larva yang mati. Sedangkan, pada kelompok kontrol positif (direndam dengan abate 1%) rata-rata jumlah larva yang mati adalah 25 larva. Sehingga dapat disimpulkan bahwa didalam ekstrak etanol kulit manggis dan abate 1% terdapat zat aktif yang bersifat racun bagi larva sehingga menyebabkan larva mati.

Oleh karena itu, ekstrak etanol kulit manggis dapat dijadikan sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* (Indarto, 2011).

Perhitungan *larvicidal activity* pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui persentase kematian larva *Aedes aegypti* instar III setelah pemberian ekstrak etanol kulit manggis dalam 24 jam. Hal ini dapat dijadikan sebagai tolak ukur keefektifan dari ekstrak kulit manggis sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Setelah dilakukan perhitungan *larvicidal activity*, yaitu dengan membandingkan jumlah larva yang mati dengan jumlah larva yang diuji.

Didapatkan bahwa pada kelompok perlakuan kontrol negatif pada 4 kali pengulangan rerata *larvicidal activity* yaitu 0%, diketahui bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak didapatkan larva yang mati. Pada kelompok perlakuan ekstrak

etanol kulit manggis 0,5% persentase rata-rata jumlah kematian larva sebanyak 91%, untuk kelompok perlakuan dengan konsentrasi 1% rata-rata kematian larva sebanyak 96%. Sedangkan *larvicidal activity* paling tinggi didapatkan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 2% dan kelompok kontrol positif yaitu sebesar 100%. Sehingga dapat disimpulkan dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak kulit manggis, *larvicidal activity* juga semakin meningkat dan berbanding lurus dengan persentase jumlah larva yang mati.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Siti Arnis dkk. (2016) menggunakan ekstrak etanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Sama halnya dengan kulit manggis, kulit pisang raja juga mengandung senyawa aktif flavonoid dan saponin yang dapat mengganggu kerja enzim larva dan bersifat toksik bagi larva *Aedes aegypti*. Penelitian lain yang dilakukan Cania dan Setyaningrum (2013) menggunakan ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) sebagai insektisida alami dan mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan alkaloid yang merupakan zat toksik bagi larva sehingga menyebabkan kematian larva.

Selain itu penggunaan ekstrak minyak atsiri daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) juga dapat bersifat toksik bagi larva *Aedes aegypti*. Kandungan ekstrak minyak atsiri daun cengkeh mengandung saponin dan flavonoid yang dapat mengganggu pencernaan larva nyamuk, selain itu juga mengganggu sistem pernapasan. Senyawa yang masuk dapat melumpuhkan saraf sehingga mengakibatkan kematian pada larva (Pamungkas dkk., 2017).

## 6.2 Mekanisme Kerusakan Membran Akibat Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III.

Kulit buah manggis mengandung berbagai bahan aktif. Menurut Puspitasari dkk. (2019) dari ekstrak kulit manggis mempunyai kandungan senyawa tanin, flavonoid dan saponin. Kandungan senyawa tersebut dapat dijadikan sebagai biolarvasida karena bersifat racun terhadap larva nyamuk. Senyawa tanin bekerja sebagai biolarvasida dengan cara menghambat proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan larva dengan mengikat protein dalam sistem pencernaan sehingga proses pencernaan larva akan terganggu (Haditomo, 2010). Flavonoid bekerja sebagai *respiratory inhibitor*, yang masuk ke dalam tubuh larva melalui saluran pernapasan (*siphon*), kemudian menimbulkan kerusakan pada saraf sistem pernapasan sehingga terjadi paralisis, akhirnya larva tidak dapat bernapas dan mati (Cania dan Setyaningrum, 2013). Saponin sebagai bahan yang mirip detergen mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan protein dan lipid penyusun membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein dan lipid mengalami perubahan. Akibatnya tegangan permukaan menurun sehingga merusak membran dan kemudian terjadi peningkatan permeabilitas pada membran sehingga menyebabkan larva kehilangan banyak cairan dan meningkatkan penetrasi senyawa toksik lainnya ke dalam tubuh larva (Muta'ali dan Purwani, 2015; Yunita, 2009).

Hal ini sejalan dengan penelitian Pratiwi (2013), dimana bahan aktif saponin dalam ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) juga merusak permeabilitas membran larva *Aedes aegypti*. Pada penelitian Kurniawan dkk. (2013) dengan menggunakan ekstrak daun suren (*Toona sinensis*) yang juga memiliki kandungan bahan aktif saponin sebagai biolarvasida terhadap larva

*Plutella xylostella*. Dikatakan saponin dapat menurunkan produktivitas kerja enzim pencernaan dan penyerapan makanan serta berinteraksi dengan membran sehingga merubah permeabilitas membran.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III menggunakan *flow cytometry*, dengan *propidium iodide* (PI) sebagai tanda adanya kerusakan membran. PI tidak dapat masuk ke dalam sel dengan membran sel yang masih utuh, PI dapat mewarnai DNA apabila telah terjadi kerusakan pada membran sel akibat hilangnya integritas membran (Crawley dkk., 2016). *Flow cytometry* dapat digunakan untuk mendeteksi sel yang mengalami hilangnya integritas dan permeabilitas membran serta kematian sel dengan PI. PI adalah molekul fluoresens kecil yang berikatan dengan DNA. Sel yang mengalami kematian dan kerusakan sel akan menjadi permeabel terhadap PI, sedangkan sel yang *viabel* tidak. Protokol untuk parameter PI ini dapat digunakan untuk menghitung kematian sel. Kemampuan PI untuk masuk ke dalam sel dan mewarnai sel tergantung pada integritas membran sel, PI tidak dapat memasuki sel yang sehat atau pada awal apoptosis karena membran sel yang masih intak. Pada sel yang mengalami nekrosis, terjadi penurunan integritas membran sel dan *nuclear membrane*, memungkinkan PI untuk masuk ke dalam sel dan berikatan dengan asam nukleat sehingga menghasilkan fluoresens berwarna merah (Rieger dkk., 2011).

Dari hasil penelitian ini dapat dibuktikan kerusakan membran akibat pemberian ekstrak etanol kulit manggis melalui hasil fluoresens warna merah. Hasil fluoresens warna merah dari PI paling tinggi yaitu pada kelompok ekstrak etanol kulit manggis 2%, sedangkan pada kelompok kontrol positif hasil PI lebih rendah dibanding kelompok ekstrak kulit manggis 2%. Dalam hal ini, ekstrak etanol kulit

manggis mempunyai kemampuan meningkatkan kerusakan membran larva. Hal ini menunjukkan jika PI akan terikat pada DNA dan memberikan hasil fluoresens merah hanya pada sel yang mengalami kerusakan membran, karena PI tidak bisa menembus membran yang masih utuh. Sehingga dapat disimpulkan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin tinggi kerusakan membran yang dihasilkan. Adanya kerusakan membran pada larva ini disebabkan oleh mekanisme bahan aktif saponin yang dapat merusak membran (Novizan, 2002).

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan yang dialami yaitu pada hasil penelitian terbentuk warna ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang keruh, sehingga diperlukan suatu zat/bahan penjernih untuk mengurangi atau menghilangkan warna keruh pada ekstrak.

## BAB 7

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan:

1. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terbukti memiliki efek sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.
2. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terbukti memiliki kandungan bahan aktif tanin, flavonoid, dan saponin.
3. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terbukti memiliki *larvicidal activity* yang semakin meningkat berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, dimana ekstrak dengan konsentrasi 2% mempunyai *larvicidal activity* paling besar (100%).
4. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mampu menyebabkan kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III.

## 7.2 Saran

Setelah melakukan penelitian ini perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai zat/bahan yang dapat ditambahkan dalam ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang mampu menghilangkan atau menjernihkan warna keruh dari ekstrak.

## DAFTAR PUSTAKA

Ahdiyah I., dan Purwani K.I. Pengaruh Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium*) sebagai Larvasida Nyamuk *Culex sp.* *JURNAL SAINS dan SENI ITS*, 2015, 4(2): 3.

Aradilla A.S., 2009. *Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Mimba (Azadirachta indica) terhadap Larva Aedes aegypti.* Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Borah R., Kalita M.C., Goswami R.Ch., dan Talukdar A.K. Larvicidal Efficacy of Crude Seed Extracts of Six Important Oil Yielding Plants of North East India against the Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Biofertilizers & Biopesticides*, 2012, 3(2): 1.

Cania E.B. dan Setyaningrum E. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. *Medical Journal Of Lampung University*, 2013, 2(4): 1-5.

Crowley L.C., Scott A.P., Marfell B.J., Boughaba J.A., Chojnowski G., dan Waterhouse N.J. Measuring Cell Death by Propidium Iodide Uptake and Flow Cytometry. *Pubmed*, 2016, 7: 1-5.

Darmawansyih. Khasiat Buah Manggis Untuk Kehidupan. *Al Hikmah*, 2014, 15(1).

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Modul Pelatihan bagi Pelatih Pemberantasan Sarang Nyamuk Demam Berdarah Dengue (PSN-DBD) dengan Pendekatan Komunikasi Perubahan Perilaku (Communication for Behavioral Impact)*. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Jakarta, Hal. 48.

Doggett S.L. 2003. NSW Arbovirus Surveillance & Vector Monitoring Program Mosquito Photos <http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquito/photos/mosquitophotos.htm>. Diakses tanggal 12 Oktober 2014.

Haditomo I. 2010. *Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum L.) Terhadap Aedes aegypti L.* Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Handayani N., Santoso L., Martini, dan Purwantisari S. Status Resistensi Larva *Aedes aegypti* Terhadap Temephos Di Wilayah Perimeter dan Buffer Pelabuhan Tanjung Emas Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 2016, 4(1): 159-165.

Herms W.B., 2006. *Medical Entomology*, The Macmillan Company, New York.

Indarto. 2011. *Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik Dari Kulit Dan Kayu Batang Tumbuhan Atrocarpus dadah Miq.* Tugas Akhir. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Integrated Taxonomic Information System. *Aedes aegypti*, (Online), ([https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=126240#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=126240#null), diakses 7 Januari 2018).

Jamal S.A.N., Susilawaty A., dan Azriful A. Efektivitas Larvasida Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca*) Terhadap Larva *Aedes sp.* Instar III. *Higiene*, 2016, 2(2): 67-72.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Demam Berdarah Dengue.* Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kemenkes RI Ed. 2, Jakarta, hal. 1.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue.* Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Jakarta, Hal. 18-60.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015.* Jakarta, Hal. 187.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. *Situasi Penyakit Demam Berdarah Di Indonesia Tahun 2017.* Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta, Hal. 3.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Buletin Jendela Epidemiologi Demam Berdarah Dengue.* Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI. Ed. 2, Jakarta, Hal. 1.

Kemabonta K.A. dan Nwankwo A.E. Larvicidal Effectiveness of Spinosad And Temephos on *Anopheles gambiae* & *Aedes aegypti*. *International Journal of Science and Nature*, 2013, 4(2): 214-222.

Kurniawan N., Yuliani, dan Rachmadiarti F. Uji Bioaktivitas Ekstrak Daun Suren (*Toono sinensis*) terhadap Mortalitas Larva *Plutella xylostella* pada Tanaman Sawi Hijau. *LenteraBio*, 2013, 2(3): 203-206.

Mulyatno K.C., Yamanaka A., Ngadino, dan Konishi E. Resistance of *Aedes aegypti* Larvae to Temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2012, 43(1): 29-33.

Muta'ali R. dan Purwani K.I. Pengaruh Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Spodoptera litura* F. *JURNAL SAINS dan SENI ITS*, 2016, 4(2).

Nugroho A., Setyaningrum E., Wintoko R., dan Kurniawan B. Pengaruh Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Perkembangan

Larva *Aedes aegypti* Instar III. *Medical Journal of Lampung University*, 2014, 3: 1.

Pamungkas R.W., Syafei N.S., dan Soeroto A.Y. Perbandingan Efek Larvasida Minyak Atsiri Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) Varietas Zanzibar dengan Temephos terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2016, 3(3): 139-144.

Poeloengan M., dan Praptiwi. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn*). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 2010, 20(2): 1-10.

Pratiwi A. Penerimaan Masyarakat Terhadap Larvasida Alami. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 2012, 8(1): 88-93.

Pratiwi Y.C., Haryono T., dan Rahayu Y.S. Efektivitas Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Lentera Bio*, 2013, 2(3): 197-201.

Puspitasari L., Swastini D.A., dan Arisanti C.I.S. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2013, 2(3).

Rasyada A., Nasrul E., dan Edward Z. Hubungan Nilai Hematokrit Terhadap Jumlah Trombosit pada Penderita Demam Berdarah Dengue. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2014, 3(3): 344.

Ridha M.R. dan Nisa K. Larva *Aedes aegypti* Sudah Toleran Terhadap Temepos Di Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Jurnal Vektora*, 2011, 3(2): 96.

Sahrir N., Ishak H., dan Maidin A. Pemetaan Karakteristik Lingkungan dan Densitas Nyamuk *Aedes aegypti* Berdasarkan Status Endemisitas DBD di Kecamatan Kolaka. *JST Kesehatan*, 2016, 6(1): 70-75.

Sgro J.Y., 2012. The Institute For Molecular Virology, Virus World, *Dengue Virus*, (Online), (<http://www.virology.wisc.edu/virusworld/viruslist.php?virus=dng>), diakses 10 Januari 2018).

Sudarmaja I.M. dan Mardihusodo S.J. Pemilihan Tempat Bertelur Nyamuk *Aedes aegypti* pada Air Limbah Rumah Tangga di Laboratorium. *Veteriner*, 2009, 10(4): 205-207.

Suhendro, Nainggolan L., Chen K., dan Pohan H.T., 2009. Demam Berdarah Dengue, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi Keempat, Pusat Penerbit Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal. 2773-2779.

Suman D.S., Shrivastava A.R., Pant S.C., dan Parashar B.D. Differentiation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) with Egg Surface

Morphology and Morphometrics Using Scanning Electron Microscope. *Arthropod Structure and Development*, 2011, 40: 479-483.

World Health Organization. 2003. *Guidelines For Dengue Surveillance and Mosquito Control*. Edisi Kedua, Manila, Hal. 5.

WHO. 2005. *Guidelines For Laboratory And Field Testing Of Mosquito Larvacides*, WHO, Geneva, Hal.10.

Windarini L.G.E., Astuti K.W., dan Warditiani N.K. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2013, 2(4).

Wuandari M.S., Suryadarma I.G.P., dan Suahartini S. Efektivitas Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) Sebagai Pestisida Nabati Spodoptera litura pada Sawi (*Brassica juncea*). *Jurnal Prodi Biologi*. FMIPA, UNY, 2017, 6(4): 245-254.

Yunita E.A., Suprapti N.H., dan Hidayat J.W. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *BIOMA*, 2009, 11 (1): 11.

