

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif. Uji ini digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu zat aktif pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis. Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan limonoid dan flavonoid pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa terdapat kandungan limonoid dan flavonoid pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis.

6.2 Larvicidal Activity

Uji aktivitas larvasidal dari ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menggunakan lima gelas perlakuan yang dimasukkan larva masing-masing sejumlah 25 ekor. Ekstrak dilarutkan dalam air sumur pada konsentrasi sebesar 0,25%, 0,5%, dan 1%. Kontrol positif berupa abate yang dilarutkan dalam air sumur pada konsentrasi 0,01% dan kontrol negatif berupa air sumur tanpa ditambahkan ekstrak. Konsentrasi ekstrak dan kontrol positif yang dipakai tersebut dipilih setelah dilakukan penelitian pendahuluan.

Air sumur digunakan sebagai pelarut ekstrak, abate, dan kontrol negatif dikarenakan kualitasnya sangat cocok untuk perkembangan larva dan pupa nyamuk. Hal ini dilihat dari air sumur yang relatif jernih, salinitas dan kandungan bahan organik rendah, pH kurang lebih netral, dan banyak mengandung mikroba dan organisme renik lain sebagai sumber makanan utama jentik nyamuk (Gionar, *et.al.*, 2001). Selain itu hasil penelitian Damanik (2002) menunjukkan bahwa

jumlah larva *Aedes* paling banyak ditemukan pada media air sumur (68,89) diikuti air hujan (50,44), dan terakhir air PAM (12,67) (Astuti, *et.al.*, 2014).

Kontrol positif yang digunakan adalah abate. Abate bekerja menghambat aktivitas enzim *cholinesterase* pada *neuromuscular junction* sehingga menimbulkan gangguan saraf karena tertimbunnya *acetylcholine* pada ujung saraf. Jika fungsi dari enzim tersebut dihambat maka hidrolisis *acetylcholine* tidak terjadi yang menyebabkan otot akan tetap berkontraksi dalam jangka waktu lama dan terjadi kekejangan, paralisis, dan kematian larva (Kemabonta dan Nwankwo, 2013; Nugroho, 2011). Pada pembuatan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) digunakan pelarut etanol yang bersifat polar dimana umumnya zat aktif yang terkandung dalam tanaman juga bersifat polar sehingga pelarut etanol mampu menarik zat aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan lainnya (Tiwari, *et.al.*, 2011).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa larva yang mati pada jam ke-12 hingga jam ke-48 mengalami peningkatan di tiap konsentrasi (0,25% dan 0,5%), dan pada konsentrasi 1%, kematian larva sudah mencapai 100% pada 12 jam pertama. Sedangkan pada kontrol negatif, hingga jam ke-48 pengamatan pada 4 kali pengulangan menunjukkan tidak ada larva yang mati. Kemudian, dilakukan perhitungan *larvicidal activity*. Didapatkan hasil rata-rata persentase *larvicidal activity* pada jam ke-12 antara ekstrak kulit jeruk nipis 1% dengan abate 0,01% memiliki kemampuan yang sama, yaitu 100% mortalitas. Oleh karena itu, ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 1% efektif sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.

Penelitian ini didukung oleh penelitian terdahulu yaitu tentang efektivitas air perasan kulit jeruk manis yang diketahui mengandung bahan aktif limonoid

sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi yang paling efektif adalah konsentrasi 1% dan 1,4% karena kemampuan membunuh larva uji sama dengan abate yaitu membunuh 100% larva uji (Nurhaifah dan Sukesi, 2015). Selain itu, terdapat pula penelitian mengenai uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti* yang diketahui mengandung bahan aktif flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun legundi yang paling efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* instar III adalah konsentrasi 1% (Cania dan Setyaningrum, 2013).

6.3 **Lethal Concentration (LC) Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)**

Dilihat dari grafik rata-rata *larvicidal activity* (grafik 5.3), semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi persentase kematian larva *Aedes aegypti*. Berdasarkan uji probit, didapatkan LC₁₀₀ ekstrak etanol kulit jeruk nipis yaitu konsentrasi 1,051%. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh larva *Aedes aegypti* 100% adalah 1,051%. Namun, dikarenakan pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0,25%, 0,5%, dan 1%, maka konsentrasi minimal untuk membunuh larva *Aedes aegypti* 100% yaitu 1% sehingga LC₁₀₀ pada penelitian ini adalah 1%.

Ekstrak kulit jeruk nipis mengandung bahan aktif flavonoid dan limonoid. Kedua senyawa ini menyebabkan kerusakan *perispiracular lobe* sehingga permukaan *terminal spiracle* yang hidrofob mengalami kerusakan. Kerusakan ini membuat media air yang mengandung ekstrak tersebut masuk melalui sistem trakeal (*terminal spiracle*) larva yang berada diujung *siphon* dan berakibat kematian larva (Yu, *et.al.*, 2015).

6.4 Kerusakan *Perispiracular Lobe* pada Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Sampel larva yang dilihat pada mikroskop cahaya yaitu larva yang mati pada jam ke-24 dari masing-masing perlakuan pada pengulangan ke-3 dan ke-4. Pada gambar 5.4, P1 (kontrol negatif) didapatkan *perispiracular lobe* dalam keadaan sedikit terbuka namun tidak didapatkan kerusakan struktur pada *perispiracular lobe*, sedangkan pada P2 (kontrol positif), P3 (ekstrak 0,25%), P4 (ekstrak 0,5%), dan P5 (ekstrak 1%) didapatkan kerusakan struktur pada *perispiracular lobe*. Selain itu, berdasarkan tabel 5.2 dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi semakin banyak kerusakan pada *perispiracular lobe*. Kerusakan ini diakibatkan oleh adanya kandungan bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yaitu limonoid dan flavonoid.

Flavonoid sebagai *respiratory inhibitor* bekerja dengan cara memutus sirkuit (*uncouple*) antara rantai respiratorik dan fosforilasi oksidatif. Penghambatan transpor elektron di situs I dengan cara menghambat *coenzymes Q reductase (NADH oxidase inhibitor)* dan pada situs II dengan cara menghambat *cytochrome bc complex*. Dengan adanya gangguan metabolisme energi di mitokondria dengan menghambat sistem transpor elektron dan hilangnya produksi ATP akan menyebabkan penurunan konsumsi oksigen mitokondria sehingga menyebabkan toksisitas pada semua komponen termasuk paralisis dan kematian larva (Repi, *et.al.*, 2013).

Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung 31 komponen bahan aktif. Bahan aktif yang paling banyak terdapat pada kulit jeruk nipis ini yaitu limonoid, β -pinene, geraniol, neral, α -pinene, linalool, dan γ -pinene. Kandungan yang terdapat pada kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yaitu limonoid sebesar

39,28%, β -pinene sebesar 28,44%, geraniol sebesar 7,5%, neral sebesar 5,3%, α -pinene sebesar 1,45%, linalool sebesar 1,4%, dan γ -pinene sebesar 0,79% (Lim, 2012). Mekanisme kerja limonoid terhadap larva yaitu dengan cara menghambat pelepasan hormon ecdisteroid yang bertanggung jawab untuk proses pergantian eksoskeleton (rangka luar kutikula) sehingga larva gagal menyelesaikan morfogenesisnya (Scapinello, *et.al.*, 2014). Dengan kata lain, limonoid bekerja sebagai antagonis dari hormon ecdisteroid atau sebagai analog hormon juvenil (Soebaktiningsih, *et.al.*, 2005; O'Brien, *et.al.*, 2009; Iram, *et.al.*, 2013). Hormon juvenil merupakan hormon yang mengatur sebagian besar proses perkembangan *post embryonic* dan reproduksi pada serangga dewasa. Hormon juvenil bersama dengan ecdisteroid (*molting hormone*) memegang peranan penting dalam proses pergantian kulit (El-Shiekh, *et.al.*, 2015). Bila titer hormon juvenil tinggi disaat hormon ecdisteroid meningkat maka akan mempertahankan aksi modulasi pergantian kulit dari larva ke larva (instar baru), namun jika titer hormon juvenil rendah atau bahkan tidak ada maka hormon ecdisteroid akan secara langsung menginduksi pergantian kulit dari larva-pupa dan pupa-dewasa. Kemudian, larva yang terhambat perkembangannya dari larva ke pupa akan mati sebagai larva (El-Shiekh, *et.al.*, 2015; Rit, 2016; Ilahi, *et.al.*, 2012). Selain itu, limonoid bekerja dengan cara mengganggu sistem saraf pada larva, salah satunya yaitu *peripheral nervous system* yang jaringan sarafnya tersebar di seluruh tubuh di bawah lapisan kutikula, yaitu epidermis. Oleh karena itu, terganggunya sistem saraf mengakibatkan rusaknya epidermis pada *perispiracular lobe* sehingga larva akan mengalami kematian (Ghosh, 2012; Elourfi, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa

ekstrak kulit jeruk nipis mempunyai efek biolarvasida yang kuat terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Namun, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji kuantitatif flavonoid dan limonoid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis/ KLT, dan uji toksisitas untuk melihat pengaruhnya terhadap lingkungan.

