

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUTRI MALU (*Mimosa pudica*)

SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

INSTAR III MELALUI KERUSAKAN MIDGUT

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Lazuardi Taniputra Suhardjo

155070101111055

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Demam Berdarah <i>Dengue</i>	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Epidemiologi.....	5
2.1.3 Patogenensis.....	6
2.1.4 Patofisiologi.....	7
2.1.5 Faktor Resiko.....	7
2.1.6 Manifestasi Klinis.....	8
2.2 <i>Aedes aegypti</i>	8
2.2.1 Taksonomi <i>Aedes aegypti</i>	8
2.2.2 Morfologi <i>Aedes aegypti</i>	9
2.2.3 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i>	13
2.2.4 Histologi <i>Midgut</i> pada Larva <i>Aedes aegypti</i>	13
2.2.5 Tempat Perkembangbiakan <i>Aedes aegypti</i>	15
2.2.6 Pengendalian <i>Aedes aegypti</i>	16

2.2.7 Aktivitas Larvasida pada Larva <i>Aedes aegypti</i>	17
2.3 Abate	18
2.3.1 Definisi Abate	18
2.3.2 Mekanisme Kerja Abate	18
2.3.3 Efek Samping Abate	19
2.4 Putri Malu (<i>Mimosa pudica</i>)	19
2.4.1 Taksonomi	19
2.4.2 Morfologi	19
2.4.3 Kandungan Senyawa Kimia Daun Putri Malu	20
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	22
3.1 Kerangka Konsep	22
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	23
3.3 Hipotesis Penelitian	23
BAB IV METODE PENELITIAN	24
4.1 Rancangan Penelitian	24
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	24
4.2.1 Populasi	24
4.2.2 Sampel	24
4.3 Variabel Penelitian	25
4.3.1 Variabel Independen (bebas)	25
4.3.2 Variabel Dependen (terikat)	25
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	26
4.5.1 Alat-alat Penelitian	26
4.5.2 Bahan-bahan Penelitian	26
4.6 Definisi Operasional	27
4.7 Prosedur Penelitian	28
4.7.1 Ekstraksi Daun Putri Malu	28
4.7.2 Evaporasi Ekstrak Daun Putri Malu	28
4.7.3 Pembuatan Larutan Stok	29
4.7.4 Pembuatan Larutan Perlakuan	29
4.7.5 Uji Fitokimia	30
4.7.6 Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya	31
4.8 Analisis Data	31
4.9 Alur Penelitian	32
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	33
5.1 Hasil Uji Bahan Aktif Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (<i>Mimosa pudica</i>) ..	33
5.1.1 Uji Flavonoid	33
5.1.2 Uji Saponin	34
5.1.3 Uji Tanin	35
5.2 Data Kematian Larva	36

5.3 Hasil Perhitungan <i>Larvicidal Activity</i>	37
5.4 Hasil Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya	39
5.5 Analisis Data	41
5.5.1 Uji Distribusi Data	41
5.5.2 Uji Varian Data	41
5.5.3 Uji <i>Kruskal Wallis</i>	41
5.5.4 Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	42
5.5.5 Uji Probit	43
BAB VI PEMBAHASAN	44
6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebagai Biolarvasida Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>	44
6.2 Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebagai Biolarvasida Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>	45
6.3 <i>Larvicidal Activity</i> Ekstrak Etanol Daun Putri Malu Pada Larva <i>Aedes aegypti</i>	46
6.4 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Putri Malu terhadap Kerusakan <i>Midgut</i> dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya	47
6.5 Hasil Analisis Data dan LC100	50
6.6 Keterbatasan Penelitian	51
BAB VII PENUTUP	52
7.1 Kesimpulan	52
7.2 Saran	52
Daftar Pustaka	53
Lampiran	57

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Jumlah Rata-Rata Kematian Larva <i>Aedes aegypti</i> dalam 24 jam.....	36
Tabel 5.2 <i>Larvicidal Activity</i> setelah 24 jam.....	38
Tabel 5.3 Rata-rata Jumlah Vakuola pada epitel Midgut.....	40
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	42
Tabel 5.5 Hasil Uji Probit	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Telur <i>Aedes aegypti</i>	9
Gambar 2.2 Larva <i>Aedes aegypti</i>	10
Gambar 2.3 Pupa <i>Aedes aegypti</i>	11
Gambar 2.4 Nyamuk dewasa <i>Aedes aegypti</i>	12
Gambar 2.5 Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	13
Gambar 2.6 Histologi <i>Midgut</i> Larva <i>Aedes aegypti</i>	15
Gambar 2.7 Tanaman Putri Malu (<i>Mimosa pudica</i>).....	20
Gambar 5.1 Hasil Uji Flavonoid.....	34
Gambar 5.2 Hasil Uji Saponin.....	35
Gambar 5.3 Hasil Uji Tanin.....	36
Gambar 5.4 Jumlah Rata- Rata Kematian Larva <i>Aedes aegypti</i> dalam 24 jam.....	37
Gambar 5.5 <i>Larvicidal Activity</i> setelah 24 jam.....	38
Gambar 5.6 Penampang Histologi <i>Midgut</i> Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III yang diberi perlakuan ekstrak etanol Daun Putri Malu (<i>Mimosa pudica</i>).....	39

DAFTAR SINGKATAN

ADCC : *Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity*

ADE : *Antibody-Dependent Enhancement*

ANOVA : *Analysis of Variance*

CDC : *Center for Disease Control*

DBD : *Demam Berdarah Dengue*

DENV : *Dengue Virus*

DHF : *Dengue Hemorrhagic Fever*

DMSO : *Dimetil Sulfoksida*

DSS : *Dengue Shock Syndrome*

HE : *Hematoxylin-Eosin*

K (+) : *Kontrol Positif*

K (-) : *Kontrol Negatif*

LC : *Lethal Concentration*

OP : *Organofosfat*

PAF : *Platelet-Activating Factor*

PSN : *Pemberantasan Sarang Nyamuk*

SP : *Synthetic Pyrethroid*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

TPA : *Tempat Penampungan Air*

SPSS : *Statistical Product of Service Solution*

WHO : *World Health Organization*

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUTRI MALU (*Mimosa pudica*) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti* INSTAR III MELALUI KERUSAKAN MIDGUT

Oleh :

Lazuardi Taniputra Suhardjo
NIM. 155070101111055

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 30 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Dini Rachma Erawati, Sp. Rad(K)
NIP. 2013027701092001

Pembimbing I/Penguji II,

Pembimbing II/Penguji III,

Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD
NIP: 196908191998022001

dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM
NIP: 196408112009121004

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

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

ABSTRAK

Suhardjo, Lazuardi Taniputra. 2018. **Efek Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan Midgut.** Tugas akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD. (2) dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM.

Latar Belakang : Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan karena virus *dengue*, yang menular melalui vektor yaitu nyamuk *Aedes*. Salah satu cara untuk memberantas DBD adalah dengan memberantas larva *Aedes aegypti*. Larvasida yang umum dipakai di Indonesia adalah Abate (temephos), tetapi seiring dengan meningkatnya angka resistensi Abate maka diperlukan alternatif biolarvasida. Putri Malu (*Mimosa pudica*) adalah salah satu pilihan yang bisa digunakan sebagai biolarvasida karena mempunyai kandungan flavonoid, saponin, dan tanin.

Metode : Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek biolarvasida ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) terhadap larva *Aedes aegypti* instar III dengan menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium yang kemudian dilihat kerusakan *midgut* larvanya dibawah mikroskop cahaya. Konsentrasi ekstrak etanol daun Putri Malu yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 4%, dengan empat kali pengulangan.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi Putri Malu 4% mempunyai *larvicidal activity* sebesar 96%, dan juga menyebabkan kerusakan *midgut* dengan jumlah rata-rata vakuola 16. Analisa statistik menggunakan *Kruskal Wallis Test* menunjukkan perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak daun Putri Malu terhadap jumlah kematian larva *Aedes aegypti* ($p < 0.05$).

Kesimpulan : Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu memiliki efek sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, biolarvasida, ekstrak etanol daun putri malu

ABSTRACT

Suhardjo, Lazuardi Taniputra. 2018. **Effect of Ethanol Extract of *Putri Malu* Leaf (*Mimosa pudica*) as a Biolarvicide Against 3rd Instar *Aedes aegypti* Larvae Through Midgut Damage**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD. (2) dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM.

Background : Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by dengue virus which is transmitted through vectors, namely *Aedes aegypti*. One way to eradicate DHF is to eradicate the *Aedes aegypti* larvae. The common used larvicide in Indonesia is Abate (temephos). However, along with the increasing number of Abate resistance, it is necessary to find alternative biolarvicides. *Putri Malu* (*Mimosa pudica*) is one option that can be used as a biolarvicide because it contains flavonoids, saponins and tannins.

Method : The purpose of this study was to determine the effect of biolarvicide in ethanol extract of *Putri Malu* leaves (*Mimosa pudica*) on 3rd instar of *Aedes aegypti* larvae using a laboratory experimental research design which was then seen its larval midgut damage under a light microscope. The concentration of ethanol extract of *Putri Malu* leaves used was 1%, 2%, and 4%, with four repetitions.

Result : The result shows, the 4% concentration of *Putri Malu* has a larvicidal activity of 96%, and causes midgut damage with an average number of vacuoles 16. The statistical analysis using *Kruskal Wallis* Test showed significant differences in changes in the concentration of *Putri Malu* leaf extract on the number of deaths of *Aedes aegypti* larvae ($p < 0.05$).

Conclusion : From this study it can be concluded that the ethanol extract of *Putri Malu* leaves has the effect of biolarvicide against 3rd instar of *Aedes aegypti* larvae through midgut damage.

Keywords: *Aedes aegypti*, biolarvicide, ethanol extract of *putri malu* leaf

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) adalah suatu penyakit iklim tropis yang banyak ditemukan di Asia Tenggara (Candra, 2010). Penyakit ini ditandai dengan adanya empat manifestasi klinik utama, yaitu demam tinggi, pendarahan, pembengkakan hati, dan kegagalan sirkulasi darah (Hairani, 2009). Menurut WHO South-East Asia Region dan Western Pacific Region, terdapat 1.800.000 atau lebih dari 70% populasi yang berisiko terkena penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD). Indonesia merupakan salah satu Negara epidemis dan dilaporkan sebanyak 150.000 kasus Demam Berdarah *Dengue* (DBD) pada tahun 2007 dimana 25.000 kasus diantaranya berasal dari wilayah Jakarta dan Jawa Barat (Kemenkes RI, 2016). Penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) masih merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama di Indonesia. Di Indonesia, Demam Berdarah *Dengue* pertama kali ditemukan di Surabaya pada tahun 1968 dan sejak saat itu penyakit tersebut meluas ke seluruh Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

Demam berdarah *Dengue* disebabkan oleh virus *Dengue* yang terdiri dari 4 serotipe yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4. Virus ini ditularkan ke hostnya, manusia, melalui gigitan vektor nyamuk yang terinfeksi yaitu nyamuk *Aedes aegypti* yang cukup besar penyebarannya di Indonesia (Candra, 2010). *Aedes aegypti* biasanya aktif pada siang hari dan menyukai tempat – tempat penampungan air bersih seperti bak mandi, tangki penampungan air, dan vas bunga maupun genangan air hujan seperti kaleng bekas, kantung plastik bekas, dan ban bekas (Palgunadi, 2009).

Salah satu pencegahan Demam Berdarah *Dengue* adalah dengan membunuh larva-larva aedes. Bahan-bahan untuk membunuh larva tersebut lebih dikenal dengan istilah larvasida. Larvasida yang terkenal dan sering dipakai di Indonesia adalah Abate (temephos). Penggunaan Abate (temephos) di Indonesia dimulai pada tahun 1976 yang kemudian ditetapkan sebagai bagian dari program pemberantasan massal *Aedes aegypti* di Indonesia pada tahun 1980. Sehingga bisa dikatakan Abate (temephos) sudah digunakan lebih dari 40 tahun. Hal itu yang memicu munculnya resistensi dari berbagai macam spesies nyamuk yang menjadi vektor penyakit.

Laporan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap Abate (temephos) sudah ditemukan di beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Kuba, Karibia, dan Thailand. Di Indonesia sendiri telah dilaporkan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap Abate (temephos) di Surabaya (Nugroho, 2013), Banjarmasin Barat, Banjar Baru Kalimantan Selatan, beberapa wilayah di Tanjung Emas Semarang, Kecamatan Sidorejo di Salatiga, hingga di Jakarta sendiri yaitu di daerah Tanjung Priok dan Mampang Prapatan (Fenisenda dan Rahman, 2016).

Indonesia memiliki beragam tanaman yang diketahui memiliki kandungan bahan aktif yang efektif dapat digunakan sebagai larvasida. Salah satu contohnya adalah Tanaman Sirih (*Piper betle*, Linn.) yang mempunyai bahan aktif seperti tanin, saponin, alkaloid, polifenol, dan flavonoid sebagai larvasida (Noshirma dan Willa, 2016). Bahan aktif seperti tanin, saponin, dan flavonoid mempunyai efek sebagai racun perut dengan cara menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan (Amalia dkk., 2015). Dengan demikian akan terjadi kerusakan membran sel dan terganggunya proses metabolisme larva (Noshirma dan Willa, 2016). Larva instar III dianggap cukup mewakili untuk penelitian karena dari kondisi anatomis dapat dibedakan kepala, thorax, dan abdomennya, serta ukurannya tidak terlalu kecil sehingga mudah dilakukan perlakuan. Selain itu larva instar III sudah aktif mencari makan sehingga dapat ditinjau saluran pencernaannya (Amalia dkk., 2015).

Putri Malu (*Mimosa pudica*) diketahui mempunyai kandungan flavonoid, saponin, dan tanin yang bersifat biolarvasida (Joseph, dkk. 2013). Bahkan diketahui bahwa ekstrak *Mimosa pudica* sebanyak 8 ml selama 48 jam mempunyai mortalitas 100% terhadap nyamuk golongan *Aedes* (Mc, dkk. 2015).

Penelitian lain menyebutkan bahwa konsentrasi ekstrak aqueous daun putri malu 0.2% menyebabkan 50% mortalitas pada larva *Aedes aegypti* dalam waktu 24 jam (Astalakshmi dkk., 2016).

Penelitian lain menemukan bahwa pemakaian ekstrak daun *Schinus terebinthifolius* dapat menyebabkan *midgut damage* pada larva *Aedes aegypti*. Dalam penelitian tersebut ditemukan bahwa kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* ditandai dengan ditemukannya pembentukan vakuola dan sel regenerasi yang berfungsi sebagai proteksi kerusakan *midgut* terhadap ekstrak daun tersebut, serta ditemukan hipertrofi dari *peritrophic membrane*, yaitu bagian dalam *midgut* yang berfungsi sebagai pelapis dari dinding *midgut* dan makanan yang masuk (Procópio dkk., 2015)

Dari data diatas bisa disimpulkan efek insektisida maupun larvasida ekstrak daun Putri Malu, namun belum ada penelitian mengenai bagaimana mekanisme kerja ekstrak etanol Putri Malu (*Mimosa pudica*) sebagai larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Untuk itu perlu dilakukan penelitian mengenai mekanisme kerja larvasida tersebut, terkhusus pada mekanisme *midgut damage* pada larva *Aedes aegypti*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) mempunyai pengaruh biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh biolarvasida ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) terhadap larva *Aedes aegypti* instar III melalui kerusakan *midgut*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan adanya bahan aktif dalam ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*).
2. Untuk menghitung *larvicidal activity* ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.
3. Untuk membuktikan adanya kerusakan *midgut* pada larva *Aedes aegypti* setelah diberi ekstrak etanol Putri Malu (*Mimosa pudica*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Sebagai sumber informasi mengenai mekanisme kerja atau patogenesis biolarvasida ekstrak etanol daun Putri Malu sehingga menyebabkan kerusakan *midgut* pada larva *Aedes aegypti*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Meningkatkan penggunaan ekstrak etanol daun Putri Malu sebagai bahan alternatif biolarvasida untuk menurunkan angka kejadian Demam Berdarah *Dengue*. Selain itu juga dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi ekstrak etanol daun Putri Malu sebagai biolarvasida.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Demam Berdarah *Dengue*

2.1.1 Definisi

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan karena virus *dengue*. Penyakit ini menular melalui vektor yaitu nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Penyakit ini umumnya terjadi di daerah tropis dan subtropis termasuk Indonesia di dalamnya. Nyamuk *Aedes* sendiri tersebar luas di rumah-rumah, sekolah dan tempat-tempat umum lainnya seperti tempat ibadah, restoran, kantor, balai desa dan lain-lain sehingga setiap keluarga dan masyarakat mengandung risiko untuk tertular penyakit DBD.

Biasanya penyakit ini menyebabkan demam mendadak selama kurang lebih 2-7 hari disertai dengan sakit kepala, nyeri ulu hati, pendarahan di gusi, hepatomegali dan trombositopenia. Obat untuk penyakit DBD belum ada, dan vaksin untuk pencegahannya juga belum ada, sehingga satu-satunya cara untuk memberantas penyakit ini adalah dengan memberantas nyamuk *Aedes aegypti* (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

2.1.2 Epidemiologi

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) banyak ditemukan di daerah tropis dan sub-tropis sehingga Asia adalah benua dengan angka kejadian DBD tertinggi, sedangkan Indonesia sendiri sejak tahun 1968 hingga sekarang masih memegang posisi teratas angka kejadian DBD tertinggi. DBD per tahun 2014 telah menghasilkan 100.347 penderita dari 34 provinsi di Indonesia, dan telah memakan korban sebanyak 908 orang. Jumlah tersebut meningkat di tahun 2015 dimana ada 126.675 penderita dimana 1.229 orang di antaranya meninggal dunia (Kemkes RI, 2016).

2.1.3 Patogenesis

Virus *Dengue* dapat menyerang sel kupffer hepar, endotel pembuluh darah, nodus limfatik, sumsum tulang, dan paru-paru. Antibodi terhadap virus *dengue* mempunyai 4 peran fungsi biologis yaitu netralisasi virus, sitolisis komplemen, antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) dan ADE. Berdasarkan perannya, terdiri dari antibodi netralisasi atau *neutralizing antibody* yang memiliki serotipe spesifik yang dapat mencegah infeksi virus, dan *non-neutralizing antibody* serotype yang mempunyai peran reaktif silang dan dapat meningkatkan infeksi yang berperan dalam patogenesis Demam Berdarah *Dengue* (DBD) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS). Contohnya, pada anak dibawah usia 2 tahun yang lahir dari ibu yang terinfeksi virus *dengue*, akan terbentuk *non neutralizing antibody* sehingga akan memacu aktivasi makrofag serta pengeluaran IL-1, IL-6, TNF *alpha* dan PAF.

Sejauh ini ada beberapa teori patogenesis DBD yang masih kontroversial. Pertama, infeksi sekunder (*secondary herelogous infection*) dimana bila seseorang mendapat infeksi sekunder dari 1 serotipe virus *dengue*, akan terbentuk kekebalan terhadap serotipe virus tersebut, sehingga apabila orang tersebut terkena infeksi sekunder oleh virus dengan serotipe baru akan sulit dinetralisasi disertai dengan terproduksinya IL-1, IL-6, *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-A) dan *platelet activation factor* (PAF) yang akan meningkatkan infeksi virus *dengue* tersebut. Kedua, teori *Antibody Dependent Enhancement* (ADE) bahwa terdapat antibodi spesifik terhadap virus tertentu sehingga dapat efektif mencegah penyakit. Namun, apabila antibodi tersebut tidak dapat menetralisasi virus maka akan menimbulkan penyakit yang lebih berat. Ketiga, teori virulensi virus yang mendasari perbedaan serotipe virus *dengue* menjadi 4. Keempat, teori Antigen-antibodi yaitu penurunan aktivitas sistem komplemen terutama C3, C4, dan C5. Kelima, teori moderator, yaitu bahwa makrofag yang terinfeksi virus *dengue* akan menghasilkan mediator seperti interferon, IL-1, IL-6, IL-12, TNF, yang bersama endotoksin akan menyebabkan syok septik, demam, dan peningkatan permeabilitas kapiler (Candra, 2010).

2.1.4 Patofisiologi

Produksi mediator-mediator inflamasi akan meningkatkan permeabilitas vasuklar yang akan menyebabkan peningkatan kehilangan plasma dari kompartemen vaskular. Kehilangan plasma ini akan menyebabkan terjadinya hemokonsentrasi, penurunan tekanan nadi, dan dapat berujung pada syok apabila kehilangan plasma sangat banyak.

Selain itu, pendarahan juga terjadi pada pasien DBD karena defek trombosit dimana trombosit tidak dapat berfungsi dengan normal selama fase akut DBD sehingga trombositopenia terjadi disertai dengan koagulopati dan masa pendarahan akan menjadi lebih panjang (Hairani, 2009).

2.1.5 Faktor Resiko

Ada beberapa faktor resiko yang dapat meningkatkan penularan DBD. Dimulai dari kepadatan dan mobilitas penduduk, serta kualitas perumahan karena nyamuk dapat terbang sejauh kurang lebih 50 meter sehingga memudahkan penularan dari satu tempat ke tempat yang lain. Kemudian faktor usia dimana DBD kebanyakan mempengaruhi usia kurang dari 15 tahun. Tidak lupa juga faktor pendidikan, penghasilan, mata pencaharian orang tersebut.

Selain itu, ada pula faktor pemicu kejadian DBD, yaitu faktor lingkungan dan faktor perilaku. Perubahan suhu, kelembaban, dan curah hujan akan memudahkan nyamuk untuk bertelur sehingga vektor penular penyakit bertambah. Adanya genangan air seperti di vas bunga, bak mandi, drum, dan kaleng bekas juga akan memperbanyak tempat nyamuk untuk bertelur. Kemudian kurangnya perhatian terhadap kebersihan tempat tinggal dan lingkungan juga akan meningkatkan angka kejadian DBD (Trisnawati dan Rahayuningsih, 2009).

2.1.6 Manifestasi Klinis

Penderita DBD akan mengalami gejala-gejala seperti demam, pendarahan, hepatomegai hingga syok. Demam pada DBD akan terjadi secara mendadak dan dapat berlangsung 2-7 hari kemudian suhu tubuh akan turun hingga normal atau malah lebih rendah lagi. Selain itu ditemukan juga nyeri kepala, sendi dan tulang. Pendarahan kebanyakan terjadi pada hari kedua setelah demam. Gejala terjadi pada kulit khususnya di tempat vena, sehingga apabila diuji dengan uji tourniquet akan positif. Selain itu ditemukan juga pendarahan pada gusi dan epistaksis. Hepatomegali atau pembesaran hati akan teraba bersamaan dengan demam. Syok akan terjadi pada hari ketiga sejak penderita sakit. Jari tangan dan kaki pasien akan terlihat pucat dan terasa dingin, kulit terasa lembab, nadi bisa jadi tidak teraba dan tekanan darah sistolik akan menurun sampai dibawah angka 80 mmHg (Hairani, 2009).

2.2 *Aedes aegypti*

2.2.1 Taksonomi *Aedes aegypti*

Menurut Richard dan Davis (1977) yang dikutip oleh Seogijanto (2006), kedudukan nyamuk *Aedes aegypti* dalam klasifikasi hewan adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Bangsa	: Diptera
Suku	: Culicidae
Marga	: Aedes
Jenis	: <i>Aedes aegypti</i>

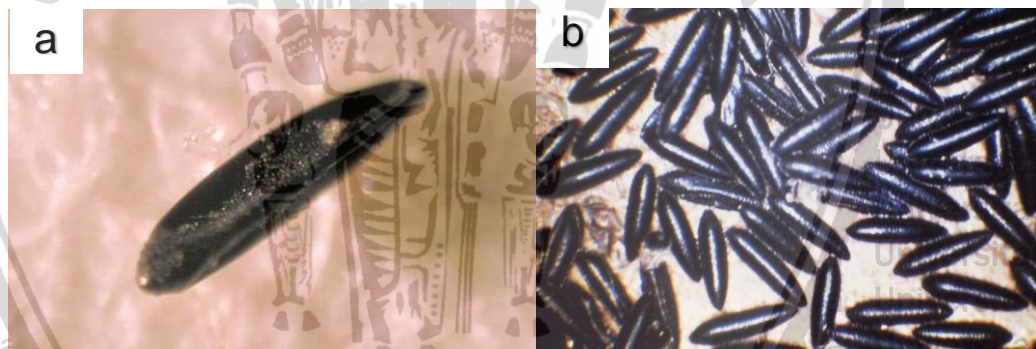
(Soegijanto, 2006)

2.2.2 Morfologi *Aedes aegypti*

a. Telur

Hampir semua nyamuk *Aedes aegypti* betina dapat menghasilkan kurang lebih 100 butir telur dalam sekali bertelur (Kementerian Kesehatan RI, 2010), tergantung banyaknya darah yang dikonsumsi oleh nyamuk tersebut. 1 ekor nyamuk *Aedes aegypti* betina dapat bertelur hingga 5 kali selama hidupnya. Kebanyakan telur akan ditemukan di genangan air, lubang pohon, dan kaleng atau kontainer bekas. *Aedes aegypti* betina akan lebih suka meletakkan telurnya di banyak tempat atau dengan kata lain disebar (Zettel and Kaufman, 2016).

Telur *Aedes aegypti* berwarna hitam, berbentuk oval memanjang, panjang 0,80mm, berat 0,0010-0,015 mg (Kementerian Kesehatan RI, 2010). Telur *Aedes aegypti* dapat bertahan dalam waktu kurang lebih 6 bulan di tempat kering dan akan menetas menjadi larva dalam 1 – 2 hari dalam suhu yang tepat yaitu 20 – 40°C atau hingga seminggu dalam suhu yang lebih rendah (Kementerian Kesehatan RI, 2010).



Gambar 2.1. (a) Telur *Aedes aegypti* yang berbentuk oval dan berwarna hitam. (b) Telur *Aedes aegypti* tidak mampu mengambang di air sehingga cenderung menempel di tempat-tempat seperti bak mandi (Zettel dan Kauffman, 2016).

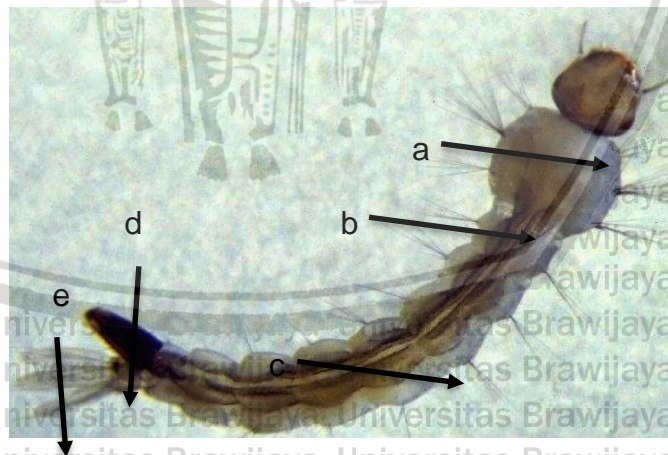
b. Larva

Larva *Aedes aegypti* suka berada di permukaan air dan dapat berenang ke dalam apabila sedang makan organisme – organisme kecil seperti alga. Siphon yang terletak di bagian posterior dari larva tersebut digunakan untuk menghirup oksigen (Zettel dan Kaufman, 2016).

Larva nyamuk *Aedes aegypti* selama perkembangannya mengalami 4 kali pergantian kulit :

1. Larva instar I memiliki panjang 1-2 mm, tubuh transparan, siphon masih transparan, tumbuh menjadi larva instar II dalam 1 hari.
2. Larva instar II memiliki panjang 2,5 – 3,9 mm, siphon agak kecoklatan, tumbuh menjadi larva instar III selama 1-2 hari.
3. Larva instar III berukuran panjang 4-5 mm, siphon sudah berwarna coklat, tumbuh menjadi larva instar IV selama 2 hari.
4. Larva instar IV berukuran 5-7 mm sudah terlihat sepasang mata dan sepasang antena, tumbuh menjadi pupa dalam 2-3 hari. Umur rata-rata pertumbuhan larva hingga pupa berkisar 5-8 hari.

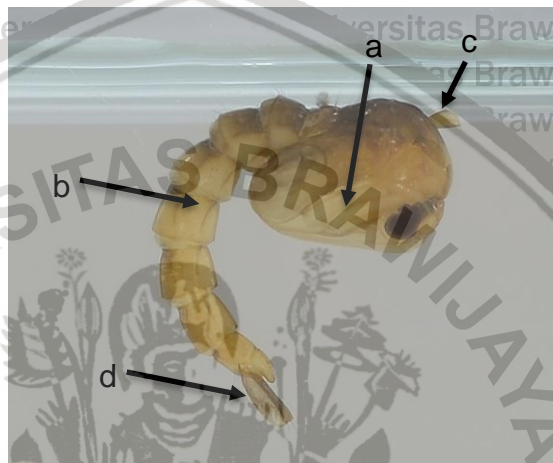
Posisi istirahat pada larva ini adalah membentuk sudut 45° terhadap bidang permukaan air (Depkes RI, 2007). Larva nyamuk laki-laki umumnya lebih cepat menjadi pupa. Larva yang berkembang pada suhu yang dingin dengan kebutuhan air yang cukup dapat bertahan dalam stadium larva selama kurang lebih 1 bulan (Zettel dan Kaufman, 2016).



Gambar 2.2. Larva *Aedes aegypti*. (a) Kepala. (b) Thorax. (c) Abdomen. (d) Siphon. (e) Anal gill's (Zettel dan Kaufman, 2016).

c. Pupa

Pada stadium pupa tubuh terdiri dari dua bagian, yaitu cephalothorax yang lebih besar dan abdomen. Bentuk tubuh membengkok (Depkes RI, 2007). Pupa nyamuk *Aedes aegypti* dapat bergerak dan dapat meresponi stimulus (Zettel dan Kaufman, 2016). Pupa tidak memerlukan makan dan akan berubah menjadi dewasa dalam 2 hari. Dalam pertumbuhannya terjadi proses pembentukan sayap, kaki dan alat kelamin (Depkes RI, 2007).

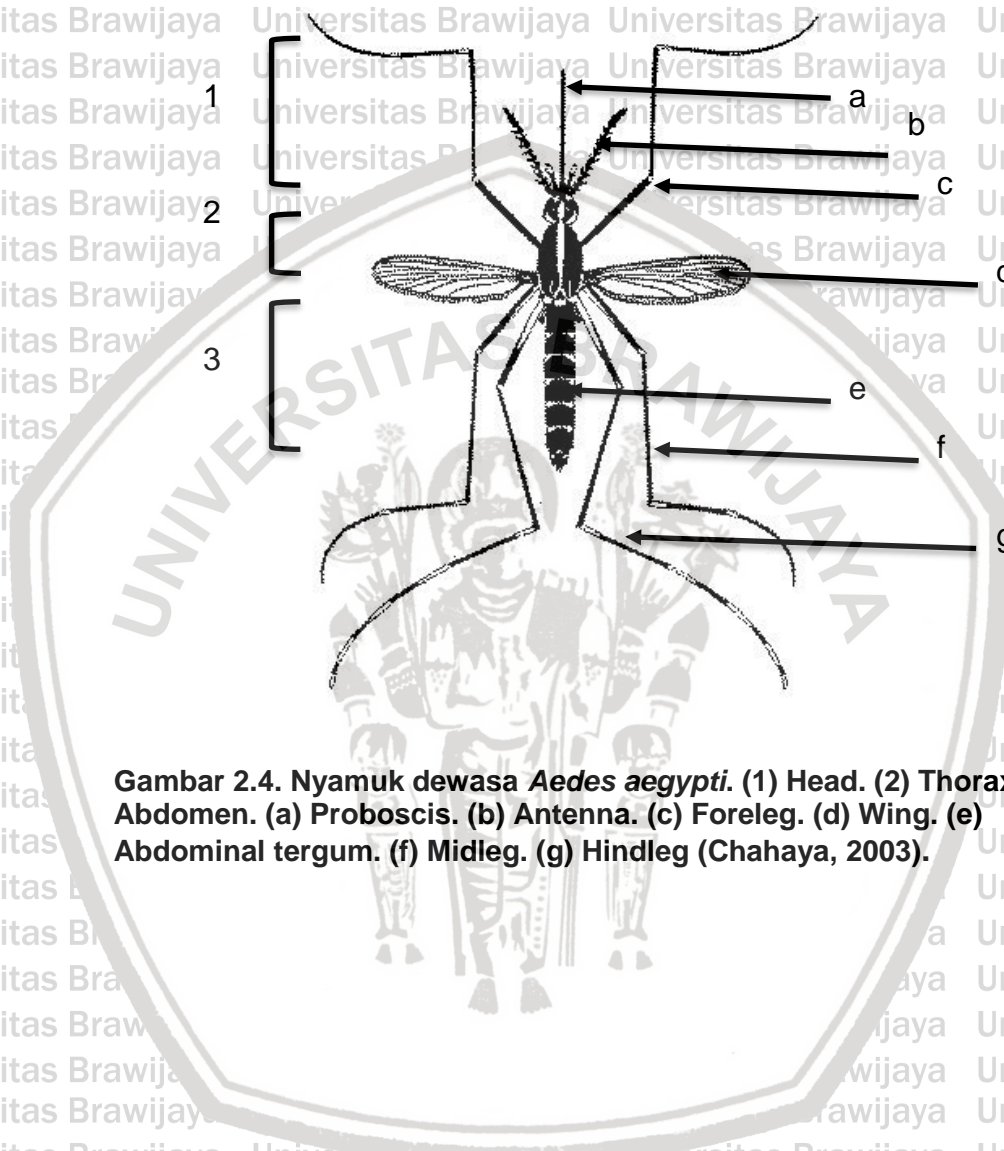


Gambar 2.3. Pupa *Aedes aegypti*. (a) Cephalothorax. (b) Abdomen (c) Respiratory horn. (d) Paddle (Zettel dan Kaufman, 2016).

d. Nyamuk Dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berukuran kecil, memiliki panjang 5 mm, berwarna hitam, dan memiliki bercak dan garis-garis putih. Tubuh nyamuk dewasa terdiri dari 3 bagian, yaitu kepala (caput), dada (thorax) dan perut (abdomen). Pada bagian kepala terpasang sepasang mata majemuk, sepasang antena yang berfungsi sebagai organ peraba dan pembau serta sepasang palpi. Nyamuk betina mempunyai mulut penusuk dan penghisap yang lebih kuat ketimbang nyamuk jantan untuk menembus kulit manusia (Arsin, 2013). Pada nyamuk betina, antena berbulu pendek dan jarang (tipe pilose). Sedangkan pada nyamuk jantan, antena berbulu panjang dan lebat (tipe plumose). Thorax terdiri dari 3 ruas, yaitu prothorax, mesothorax, dan metathorax. Pada bagian thorax terdapat 3 pasang kaki dan pada ruas ke 2 (mesothorax) terdapat

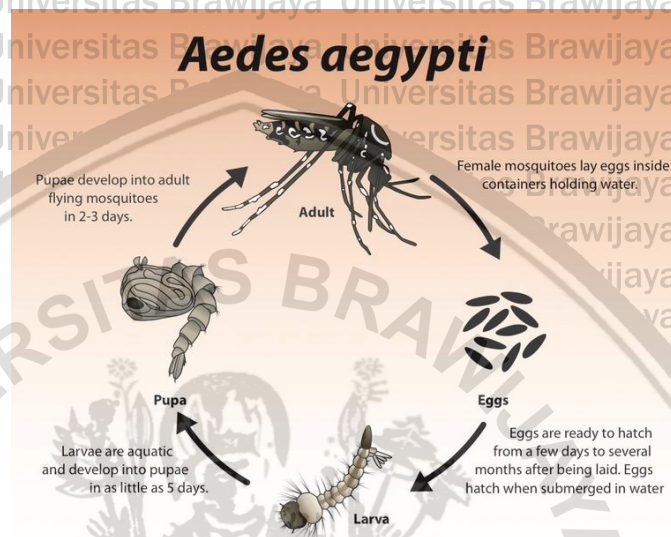
sepasang sayap. Abdomen terdiri dari 8 ruas dengan bercak putih keperakan pada masing-masing ruas. Pada ujung atau ruas terakhir terdapat alat kopulasi berupa cerci pada nyamuk betina dan hypogoeum pada nyamuk jantan (Depkes RI, 2007).



Gambar 2.4. Nyamuk dewasa *Aedes aegypti*. (1) Head. (2) Thorax. (3) Abdomen. (a) Proboscis. (b) Antenna. (c) Foreleg. (d) Wing. (e) Abdominal tergum. (f) Midleg. (g) Hindleg (Chahaya, 2003).

2.2.3 Siklus Hidup *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* adalah serangga holometabolous dimana mengalami metamorphosis sempurna, mulai telur – larva – pupa – nyamuk dewasa. Masa hidupnya sekitar 2 minggu sampai 4 minggu, tergantung kondisi lingkungannya (Zettel dan Kaufman, 2016).



Gambar 2.5. Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk betina bertelur, telur menetas menjadi larva dalam beberapa minggu, larva menjadi pupa dalam 5 hari, dan pupa menjadi nyamuk dewasa dalam 2-3 hari (CDC, 2012).

2.2.4 Histologi *Midgut* pada Larva *Aedes aegypti*

Larva nyamuk *Aedes aegypti* secara makroskopis tersusun atas kepala, thorax, abdomen. Pada bagian kepala larva *Aedes aegypti*, terdapat sepasang mata, sepasang antena, dan mulut yang dilengkapi dengan *proboscis*. Bagian thorax larva *Aedes aegypti* dibagi menjadi 3 bagian yaitu *prothorax*, *mesothorax*, dan *metathorax*. Sedangkan abdomen larva *Aedes aegypti* berbentuk memanjang dan silindris yang terdiri dari 8 segmen dengan dilengkapi *comb spine* pada segmen ke-8.

Larva *Aedes aegypti* memiliki siphon untuk bernapas yang terletak pada bagian akhir abdomen dengan ujungnya terdapat spirakel. Pada

abdomen, terdapat saluran pencernaan yang dibagi menjadi 3 bagian yaitu *foregut*, *midgut*, *hindgut*. *Foregut* merupakan bagian anterior dari usus yang kemudian dibagi lagi menjadi faring, esofagus, dan crop.

Midgut merupakan bagian tengah dari usus yang kemudian dibagi lagi menjadi *midgut* anterior, *midgut* sentral, dan *midgut* posterior. Sedangkan *hindgut* merupakan bagian posterior dari saluran pencernaan yang kemudian dibagi lagi menjadi ileum, colon, dan rectum. Otot enterik pada usus larva *Aedes aegypti* ada 2 macam yaitu otot sirkuler dan otot longitudinal.

Pada *midgut* terdapat suatu lumen dengan mikrovili yang dibungkus oleh membran peritrofik (*peritrophic membrane*) transparan dari bagian dalam dan lapisan epitel *midgut* dari bagian luar (Andrew A., 2013; Murshida dkk., 2015; Perumalsamy dkk., 2013). *Midgut* berfungsi sebagai tempat utama untuk penyerapan nutrisi, ion-ion, dan juga air atau yang berarti berfungsi sebagai sistem pencernaan, homeostasis ion, serta osmoregulasi. Epitel yang terdapat saluran pencernaan larva adalah epitel selapis kolumnar dengan mikrovili. Mikrovili usus terdapat pada *brush border* yang mempunyai fungsi dalam membantu penyerapan makanan (Lemos, dkk., 2018).



Gambar 2.6 Histologi *Midgut* Larva *Aedes aegypti*. (L) Lumen, (m) otot/muscle, (dc) digestive cell, (n) nukleus, (ep) epitel selapis columnar, (rc) sel regeneratif/regenerative cell, (PM) peritrophic membrane, (bb) brush border (Procópio dkk., 2015)

2.2.5 Tempat Perkembangbiakan *Aedes aegypti*

Tempat perkembangbiakan utama ialah tempat-tempat penampungan air berupa genangan air yang bertampung di suatu tempat atau bejana di dalam atau di sekitar rumah atau tempat-tempat umum, biasanya tidak melebihi jarak 500 meter dari rumah. Nyamuk ini biasanya tidak dapat berkembang baik di genangan air yang langsung berhubungan dengan tanah (Kementerian Kesehatan RI, 2010). Jenis perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* dikelompokkan menjadi:

a. Tempat penampungan air (TPA) untuk keperluan sehari-hari, seperti: drum, tangki reservoir, tempayan, bak mandi/WC, dan ember.

b. Tempat penampungan air bukan untuk keperluan sehari-hari (NTPA), seperti: tempat minum burung, vas bunga, perangkap semut,

dan barang-barang bekas (ban, kaleng, botol, plastik, dan lain-lain).

c. Tempat penampungan air alamiah seperti: lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa, pelepah pisang, dan potongan bambu (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

2.2.6 Pengendalian *Aedes aegypti*

Hingga saat ini pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* merupakan cara yang paling utama untuk memberantas penyakit DBD, hal ini dilakukan karena vaksin untuk mencegah dan obat untuk membasmi virus DBD belum tersedia. Pemberantasan ini dilakukan dengan memberantas nyamuk dewasa ataupun jentiknya. Pemberantasan terhadap jentik *Aedes aegypti* yang dikenal dengan istilah Pemberantasan Sarang Nyamuk DBD (PSN DBD) dilakukan dengan cara:

a. Pengendalian secara mekanis

Pemberantasan jentik *Aedes aegypti* yang dilakukn secara fisik yang biasanya dikenal dengan istilah 3M Plus, yaitu Menguras dan menyikat bak mandi, bak WC, dan lain-lain. Menutup tempat penampungan air rumah tangga (tempayan, drum dan lain-lain). Mengubur, menyingkirkan atau memusnahkan barang-barang bekas (seperti kaleng, ban bekas dan lain lain), plus yaitu program abatisasi.

b. Pengendalian secara kimiawi

Cara memberantas jentik *Aedes aegypti* dengan menggunakan insektisida pembasmi jentik (larvasida) merupakan pengendalian atau pemberantasan yang paling sering digunakan sekarang. Pengendalian secara kimia atau menggunakan insektisida ini ada beberapa macam, yaitu:

1. Organofosfat (OP) yang bekerja melalui enzim kolinesterase. Contohnya adalah malathion, temephos, dll.
2. Karbamat yang cara bekerjanya mirip organofosfat namun kerjanya reversibel dan lebih aman. Contohnya adalah bendiocarb, propoksur, dll (Kementerian Kesehatan RI, 2010).
3. Piretroid atau synthetic pyrethroid (SP) yang bekerja dengan cara mengganggu sistem saraf. Contohnya metofluthrin, permetrin, etofenproks, dll (Kemenkes, 2012).

c. Pengendalian secara biologis

Cara pengendalian ini memanfaatkan musuh-musuh alami nyamuk. Misalnya dengan memelihara ikan pemakan jentik, dan dengan menggunakan *Bacillus thuringiensis*. Pelaksanaan pengendalian ini memerlukan pengetahuan dasar yang memadai baik mengenai bioekologi, dinamika populasi nyamuk yang akan dikendalikan dan juga bioekologi musuh alami yang akan digunakan (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

d. Perlindungan Diri

Penggunaan repellent serta pakaian lengan panjang atau celana panjang serta memasang kelambu atau berselimut saat tidur dapat melindungi gigitan nyamuk *aedes aegypti* dan penularan virus DBD (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

2.2.7 Aktivitas Larvasida pada Larva *Aedes aegypti*

Aktivitas Larvasida dapat melalui 3 cara yaitu :

1. Racun perut, dimana larvasida akan masuk ke sistem pencernaan dan diserap oleh dinding saluran pencernaan.
2. Racun kontak, yaitu kontak larvasida dengan dinding sel kulit atau kutikula dimana larvasida akan diserap masuk ke dalam aliran darah dan tersebar ke seluruh tubuh larva.
3. Racun pernapasan, yaitu larvasida masuk melalui lubang pernapasan (spirakel) sehingga menyebabkan kerusakan spirakel dan kematian larva (Fitriyani, 2017).

2.3 Abate

2.3.1 Definisi Abate

Abate (temephos) adalah salah satu jenis larvasida. Konsentrasi yang digunakan adalah 1%. Biasanya Abate berbentuk butiran pasir (sand granules) yang kemudian ditaburkan di tempat yang biasa digunakan untuk menampung air dengan dosis 1 gram untuk 10 liter air. Bahan kimia ini dapat membunuh larva selama 3 bulan dan tidak berbahaya bagi manusia, burung, ikan dan binatang peliharaan lainnya. Abate tidak menyebabkan perubahan rasa, warna dan bau pada air yang diberi perlakuan sehingga dapat diminum. Kelemahan Abate adalah pada keadaan wabah yang memerlukan pemberantasan secara cepat, dimana larvasida ini tidak bisa diharapkan sebagai pembunuh yang hebat.

2.3.2 Mekanisme Kerja Abate

Abate (temephos) merupakan salah satu pestisida golongan senyawa fosfat organik yang masuk melalui kulit, terhirup lewat pernapasan dan termakan lewat mulut. Cara kerjanya adalah dengan menghambat enzim cholinesterase, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas saraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung saraf. Hal tersebut akan menyebabkan otot saluran cerna berkontraksi terus menerus dalam waktu lama maka akan terjadi kekejangan. Hal tersebut akan menyebabkan menurunnya intake nutrisi sehingga akan menyebabkan kerusakan epitel usus. Jadi seperti halnya senyawa organophosphat lainnya Abate juga bersifat anti cholinesterase. Bubuk Abate (temephos) yang ditaburkan ke dalam kontainer air akan membuat lapisan yang akan bertahan selama kurang lebih 3 bulan.

2.3.3 Efek Samping Abate

Abate relatif aman untuk manusia namun apabila penggunaannya terlalu berlebihan maka dapat mengganggu aktivitas asetilkolin di ujung saraf pada manusia sehingga bisa menyebabkan kejang, kelumpuhan nafas, dan bahkan bisa berakhir pada kematian. Selain itu ada efek samping lain seperti muntah, pusing, vertigo, dan diare (Nugroho, 2013).

2.4 Putri Malu (*Mimosa pudica*)

2.4.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Fabales
Family	: Fabaceae
Subfamily	: Mimosoideae
Genus	: <i>Mimosa</i>
Species	: <i>M. pudica</i>

(Joseph, dkk., 2013)

2.4.2 Morfologi

Mimosa pudica adalah tanaman berduri pendek yang cabangnya tumbuh mendekati tanah. Tingginya kurang lebih 0.5 m dan dapat menyebar hingga 0.3 m. Batangnya tegak, ramping, berduri, dan bercabang. Daunnya berbentuk bipinnate seperti pakis dan berwarna hijau pucat. Tanaman ini akan menutup bila diganggu. Bunganya berbentuk bulat, berwarna pink keunguan. (Joseph dkk., 2013)



Gambar 2.7. Tanaman Putri Malu (*Mimosa pudica*) (Joseph dkk., 2013)

2.4.3 Kandungan Senyawa Kimia Daun Putri Malu

a. Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ yang banyak terdapat pada jaringan tanaman ((Redha, 2010)). Flavonoid dapat menyebabkan toksisitas pada serangga terutama sebagai racun pernapasan, dengan bekerja sebagai penghambat enzim acetylcholinesterase (Ding, dkk., 2013; Pradani, 2009). Kandungan senyawa flavonoid ini juga mengganggu sistem *feeding behavior* melalui penghambatan kemampuan saluran pencernaan untuk mencerna makanan. Hal ini akan menyebabkan serangga kekurangan nutrisi dan lama-kelamaan dapat menyebabkan kematian (Goławska, dkk., 2014; Procópio *et al.*, 2015; (War dkk., 2012)).

b. Tanin

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol. Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin (Sujarnoko, 2015).

Tanin mempunyai sifat toksik terhadap *midgut* sehingga dapat menurunkan aktivitas makan pada larva. Toksin Tanin tersebut akan merusak integritas sel epitel pada *midgut* melalui peningkatan ROS/Reactive Oxygen Species (Barbehenn dan Constabel, 2011).

Protein pada tanin juga dapat mengikat protein yang diperlukan tubuh sehingga akan mengganggu proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan serangga dan juga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase (Dinata, 2008; Minami *et al.*, 2013). Akibatnya, tanin akan menghambat tingkat konsumsi makanan, tingkat pertumbuhan dan kemampuan bertahan larva (Yunita, dkk., 2009).

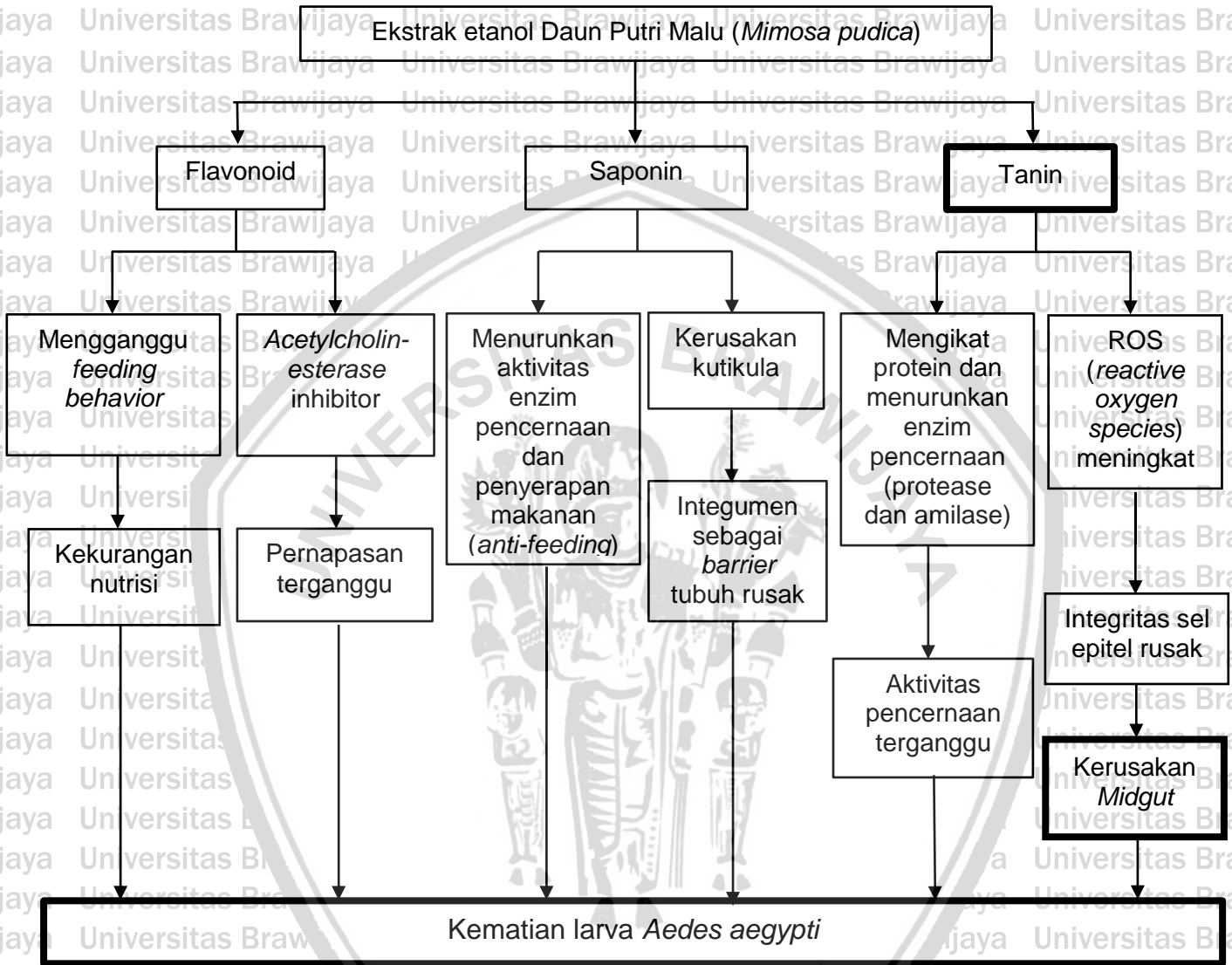
c. Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Pradipta, 2011).

Dalam insektisida, Saponin berperan dalam menurunkan *intake* makanan pada serangga dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*anti-feeding*) sehingga menghambat perkembangan, mengganggu pertumbuhan dan menghambat reproduksi serangga. (Pradani, 2009; Dinata, 2008; Suparjo, 2008). Saponin juga dapat menembus membran kutikula pada larva karena sifatnya yang larut dalam air sehingga dapat mengubah integritas membran sel yang berujung pada kematian larva (Ambarwati, dkk., 2014)

BAB III
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

Brawijaya = Diteliti

Brawijaya = Tidak Diteliti

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Pada daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) didapatkan zat aktif berupa flavonoid, saponin, dan tanin.

Flavonoid dapat mengganggu *feeding behavior* melalui hambatan kemampuan saluran pencernaan untuk mencerna makanan. Akibatnya, serangga kekurangan nutrisi yang lama-lama dapat berujung pada kematian. Selain itu flavonoid dapat mengandung racun pernapasan yaitu sebagai *acetylcholinesterase inhibitor* sehingga larva tidak dapat bernapas dan berujung pada kematian.

Saponin yang dikandung ekstrak daun Putri Malu dapat menembus membran kutikula pada larva karena sifatnya yang larut dalam air sehingga dapat mengubah integritas membran sel yang berujung pada kematian larva. Selain itu Saponin juga berperan dalam menurunkan *intake* makanan pada serangga dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*anti-feeding*) sehingga menghambat perkembangan larva.

Tanin yang dikandung ekstrak daun putri malu dapat mengikat protein yang diperlukan tubuh dan juga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase. Akibatnya, tanin akan menghambat tingkat konsumsi makanan, tingkat pertumbuhan dan kemampuan bertahan larva. Selain itu Tanin mempunyai sifat toksik terhadap *midgut* sehingga dapat menurunkan aktivitas makan pada larva yaitu melalui kerusakan integritas sel epitel pada *midgut* melalui peningkatan ROS/Reactive Oxygen Species.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) mempunyai pengaruh sebagai biolarvasida melalui kerusakan *midgut* pada larva *Aedes aegypti* instar III.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

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

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Surabaya.

4.2.2 Sampel

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini, yaitu larva *Aedes aegypti* instar III, larva berukuran 3.9 sampai 4.9 mm, bergerak aktif.

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini, yaitu larva *Aedes aegypti* instar I, II, IV dan larva yang ukurannya <3.9 atau >4.9 mm.

c. Besar sampel

Sampel penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol positif (diberi Abate 1%), 1 kelompok kontrol negatif (tanpa diberi ekstrak dan Abate), dan 3 kelompok diberi perlakuan yaitu kelompok konsentrasi ekstrak daun Putri Malu 1%, 2%, dan 4%. Masing-masing kelompok perlakuan mewakili konsentrasi dengan jumlah anggota yang sama. Jumlah larva dalam tiap kelompok berdasarkan pedoman WHO yaitu menggunakan 25 larva (WHO, 2005).

Penentuan jumlah pengulangan berdasarkan rumus sebagai berikut :

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

(Solimun, 2001)

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Jumlah larva yang digunakan untuk setiap perlakuan adalah 25 ekor larva sesuai rekomendasi WHO 2005. Sehingga jumlah total larva *Aedes aegypti* instar III yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500 larva.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen (bebas)

Variabel independen (bebas) pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak putri malu (*Mimosa pudica*) pada setiap kelompok perlakuan.

4.3.2 Variabel Dependen (terikat)

Variabel dependen (terikat) pada penelitian ini adalah jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III melalui *midgut damage*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Januari 2018 sampai April 2018. Pembuatan proposal dimulai bulan September 2017.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok, yaitu alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol daun putri malu dan alat-alat yang digunakan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun putri malu sebagai biolarvasida.

- a. Alat pembuatan ekstrak daun putri malu : blender, tabung untuk merendam daun putri malu yang sudah diblender, saringan, kertas saring, gelas ekstraksi (botol), neraca analitik, klem statis, oven, timbangan, dan seperangkat alat evaporasi vakum (*rotary evaporator*, pompa vakum, tabung pendingin dan 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.
- b. Alat-alat untuk uji efektivitas ekstrak etanol daun putri malu : gelas plastik 250mL, pipet tetes, spuit 3 cc, spuit 1cc, gelas beker, tabung ukur, *object glass*, dan mikroskop cahaya.

4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

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

- a. Bahan-bahan pembuatan ekstrak etanol daun putri malu : daun putri malu (*Mimosa pudica*) yang telah dikeringkan, aquades, dan etanol 96% sebagai pelarut.
- b. Bahan-bahan untuk uji efektivitas ekstrak etanol daun putri malu : larva *Aedes aegypti* instar III, ekstrak etanol daun putri malu, air sumur, dimetil sulfoksida (DMSO), dan Abate.

4.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak daun putri malu didapatkan daun putri malu yang dikeringkan selama 5 hari dan didapatkan 500 gram kemudian diblender dan diekstrak di lab kimia polinema, Malang.
- b. Jumlah kematian larva yaitu banyaknya larva *Aedes aegypti* yang mati dalam 48 jam pemberian perlakuan. Larva *Aedes aegypti* instar III dianggap mati, yaitu larva tidak dapat bergerak saat disentuh lidi (Unnikrishnan, 2014 ; WHO, 2005).
- c. Larva *Aedes aegypti* instar III yaitu larva *Aedes aegypti* panjang tubuh 3.9 - 4.9 mm (Arsin, 2013). Larva instar III dipakai sebagai bahan penelitian karena tahap ini dianggap cukup mewakili kondisi larva dan merupakan larva bentuk aktif mencari makan (Wulandari dkk., 2006).
- d. Larvicidal activity adalah kemampuan larvasida ekstrak etanol Putri Malu terhadap larva *Aedes aegypti* dilihat dari presentase mortalitas larva. (Yu dkk., 2013)

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

- e. Absolute Lethal Concentration (LC100) adalah konsentrasi terendah yang menyebabkan kematian 100% dari organisme atau spesies yang diuji.
- f. Biolarvasida adalah larvasida nabati (hayati) yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Oleh karena terbuat dari bahan alami atau nabati maka jenis larvasida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*) (Tarigan dkk., 2014).
- g. Kerusakan midgut pada larva *Aedes aegypti* ditandai dengan pembentukan vakuola dan sel regenerasi untuk mencegah kerusakan lebih lanjut serta ditemukan hipertrofi dari *perithropic membrane* yaitu bagian dalam midgut yang berfungsi sebagai pelapis dari dinding midgut dan makanan yang masuk (Procópio dkk., 2015).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Daun Putri Malu

- a. Bubuk daun putri malu sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam tabung untuk direndam dengan etanol sebanyak 1000 mL.
- b. Pelarut etanol dimasukkan ke dalam tabung tersebut sampai serbuk yang ada di dalam kertas saring terendam dalam pelarut etanol selama kurang lebih 1 minggu

4.7.2 Evaporasi Ekstrak Daun Putri Malu

- a. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantungkan dengan kemiringan 30 hingga 40 derajat terhadap meja percobaan.
- b. Hasil rendaman etanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- c. 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.
- d. *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).
- e. Evaporator diletakkan sedemikian rupa, sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*.
- f. Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu *waterbath* dinaikkan sesuai titik didih etanol yaitu 78°C.
- g. Pada titik didih etanol terjadi penguapan antara etanol dengan zat aktif dari ekstrak daun putri malu.
- h. Sirkulasi (pemisahan etanol dengan ekstrak daun putri malu) berjalan sampai etanol berhenti mengalir pada labu pemisah selama kurang lebih 2-3 jam.
- i. Ekstrak yang tertinggal pada labu evaporator dipindahkan pada cawan penguap dan dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 2-3 jam.
- j. Hasil akhir diperoleh ekstrak daun putri malu dalam bentuk pasta sebanyak ± 50 gram.

4.7.3 Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok 60%, yaitu dengan mencampurkan 3 ml ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) 100% dengan 2 ml dimetil sulfoksida (DMSO).

4.7.4 Pembuatan Larutan Perlakuan

Larutan stok ekstrak daun putri malu 60% yang tersimpan dalam lemari es dibiarkan di udara kamar selama 15 menit agar menjadi sesuai dengan suhu kamar. Untuk membuat ekstrak daun putri malu 2% digunakan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

M1 : Konsentrasi larutan stok

V1 : Volume larutan stok

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

V2 : Volume larutan perlakuan

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

$$60 \times V1 = 2 \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 3.32 \text{ ml}$$

Sehingga perlu 3.32 ml larutan stok ditambah dengan 96.68 ml air sumur untuk mengasihkan 100 mL larutan ekstrak konsentrat 2%. Setelah diperoleh 100 mL larutan ekstrak daun putri malu dengan konsentrasi 2%, selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi 1% dan 0.5% dengan cara pengenceran:

- a. 50 mL ekstrak daun putri malu 2% ditambahkan 50 mL air sumur. Diperoleh 100 mL ekstrak daun putri malu dengan konsentrasi 1%
- b. 50 mL ekstrak daun putri malu 1% ditambahkan 50 mL air sumur. Diperoleh 100 mL ekstrak daun putri malu dengan konsentrasi 0.5%

- c. Abate 1% sebagai kontrol positif
- d. Air sumur sebagai kontrol negatif

Setelah 5 kelompok perlakuan tersebut dibuat, dimasukkan 25 larva pada masing-masing kelompok perlakuan tersebut dan dilihat dalam 24 jam sesuai standar metode yang dikeluarkan oleh WHO (WHO, 2005).

4.7.5 Uji Fitokimia

Uji Fitokimia dilakukan untuk membuktikan apakah ekstrak etanol Daun Putri Malu mengandung bahan-bahan aktif. Bahan aktif yang diuji dalam penelitian ini adalah flavonoid, saponin, dan tanin.

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 1 ml aquades dan 1 ml kloroform kemudian dihomogenkan dan didiamkan, lalu diambil lapisan air paling atas. Lapisan air tersebut ditambahkan serbuk magnesium (0.1 g) dan 5 tetes HCl pekat kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid (Zaidan dan Djamil, 2014).

b. Uji Saponin

Sebanyak 0.5 gram ekstrak pekat dilarutkan dalam 10 mL air panas, didinginkan. Dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Kemudian terbentuk buih yang stabil, lalu ditambah HCl 2 M, dikocok tetap terbentuk buih yang stabil. Ditambahkan 3 tetes *olive oil*. Timbulnya buih hingga selang waktu 30 detik (buih stabil) menunjukkan adanya saponin (Zaidan dan Djamil, 2014).

c. Uji Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 mL aquades kemudian lalu disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan terdapatnya Tanin (Zaidan dan Djamil, 2014).

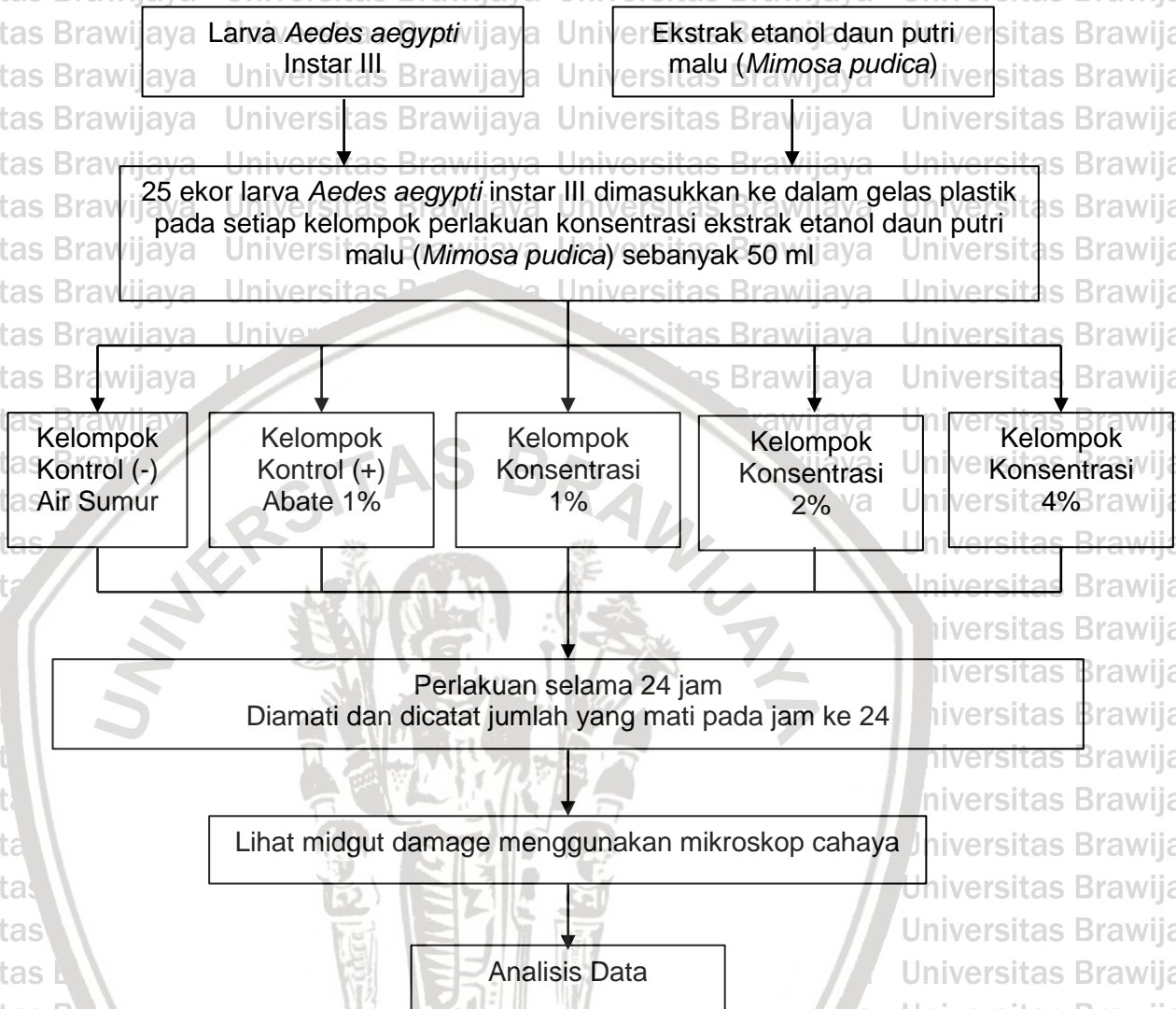
4.7.6 Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan menggunakan potongan histologi larva dibersihkan dengan air suling kemudian direndam dalam etanol dan *diembbeding*. Kemudian potongan tersebut dipotong sebesar 3- μ m lalu ditambahkan pewarnaan HE (Hematoxylin-Eosin), diletakkan di glass object lalu diamati dengan perbesaran 40x. Hasil pengamatan di mikroskop cahaya diharapkan akan ditemukan adanya pembentukan vakuola dalam sitoplasma sel epitel *midgut*. Setelah ditemukan bentukan vakuola-vakuola, dilakukan penghitungan jumlah vakuola untuk menentukan derajat kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* (Procópio dkk., 2015).

4.8 Analisis Data

Semua data jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati yang didapatkan dari hasil penelitian dihitung menggunakan analisis statistik untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari masing-masing konsentrasi. Analisis pertama yang dilakukan ialah menghitung distribusi data dari jumlah larva uji yang mati. Selanjutnya, dilakukan uji varian data. Apabila distribusi data tidak normal dan varian data tidak sama atau tidak homogen, tidak dapat dilakukannya uji *One way Anova* karena tidak terpenuhinya syarat uji parametrik yaitu distribusi data yang normal dan varian yang sama. Selanjutnya sebagai alternatif digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Lalu dilanjutkan uji *post-hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki perbedaan signifikan dalam menyebabkan kematian larva ($p < 0.05$). Selanjutnya dilakukan analisis probit untuk menemukan efek mortalitas ekstrak etanol daun putri malu terhadap larva *Aedes aegypti* yang dinyatakan dengan *Lethal Concentration (LC)*.

4.9 Alur Penelitian



BAB V

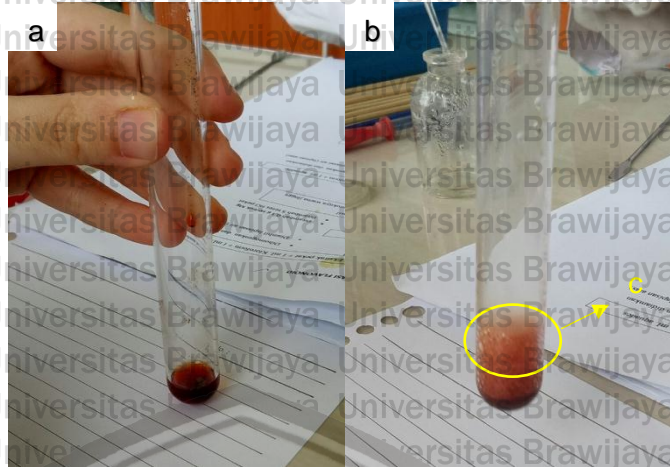
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Uji Bahan Aktif Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (*Mimosa pudica*)

Uji bahan aktif ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) ini menggunakan metode uji kualitatif secara fitokimia. Uji ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) yang berfungsi sebagai biolarvasida. Senyawa-senyawa yang ingin dideteksi antara lain flavonoid, saponin, dan tanin.

5.1.1 Uji Flavonoid

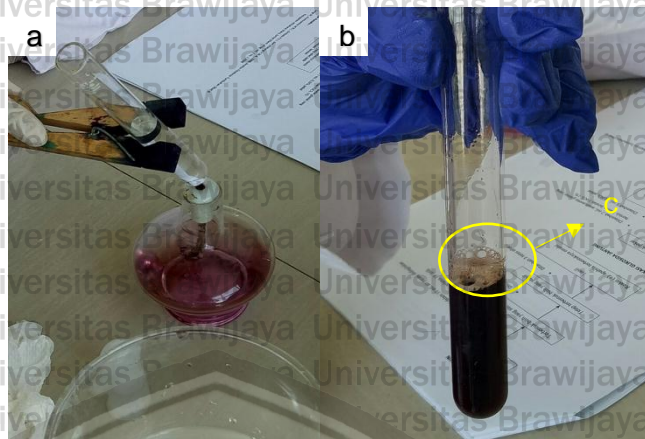
Uji flavonoid dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya flavonoid dalam ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*). Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan 1 gram ekstrak daun putri malu dalam 1 ml aquades dan 1 ml kloroform, kemudian dihomogenkan dan didiamkan. Kemudian akan terbentuk lapisan air di paling atas yang kemudian diambil dan ditambahkan serbuk Magnesium 0,1 gram dan 5 tetes HCl pekat dan kemudian dikocok. Adanya flavonoid pada ekstrak etanol daun putri malu ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Pada penelitian ini telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu mengandung flavonoid.



Gambar 5.1. Hasil Uji Flavonoid. (a) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebelum ditambahkan serbuk Magnesium 0,1 gram dan 5 tetes HCl pekat. (b) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu setelah serbuk Magnesium 0,1 gram dan 5 tetes HCl pekat. Tampak ekstrak berubah warna menjadi jingga. (c) Warna Jingga.

5.1.2 Uji Saponin

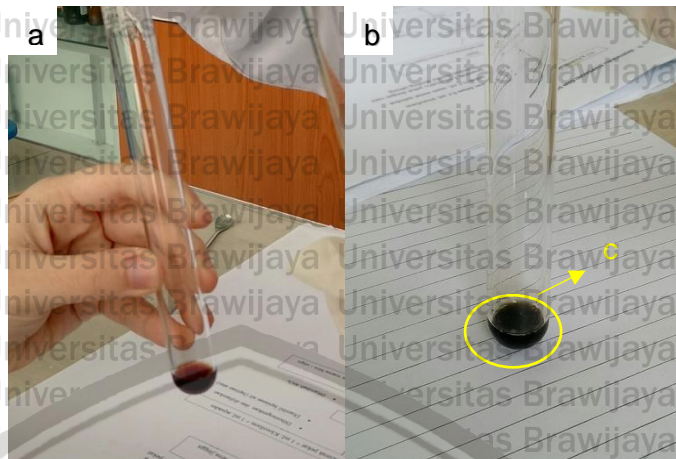
Uji Saponin dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya saponin dalam ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*). Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak etanol daun putri malu ke dalam 10 ml aquades dan dipanaskan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Lalu akan ditambahkan HCl 2 M dan 3 tetes *olive oil*. Adanya saponin dalam ekstrak etanol daun putri malu ditandai dengan timbulnya buih. Pada penelitian ini telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu mengandung saponin.



Gambar 5.2. Hasil Uji Saponin. (a) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebelum dipanaskan dan ditambahkan HCl 2 M dan 3 tetes *olive oil*. (b) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu setelah dipanaskan dan ditambahkan HCl 2 M dan 3 tetes *olive oil*. Tampak di permukaan ekstrak terdapat buih. (c) Buih.

5.1.3 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya tanin dalam ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*). Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan 1 gram ekstrak dalam 10 ml aquades lalu disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Adanya kandungan tanin dalam ekstrak etanol daun putri malu ditandai dengan terbentuknya warna biru tua. Pada penelitian ini telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu mengandung tanin.



Gambar 5.3. Hasil Uji Tanin. (a) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebelum ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. (b) Ekstrak Etanol Daun Putri Malu setelah ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Tampak ekstrak berubah warna menjadi biru tua. (c) Warna biru tua.

5.2 Data Kematian Larva

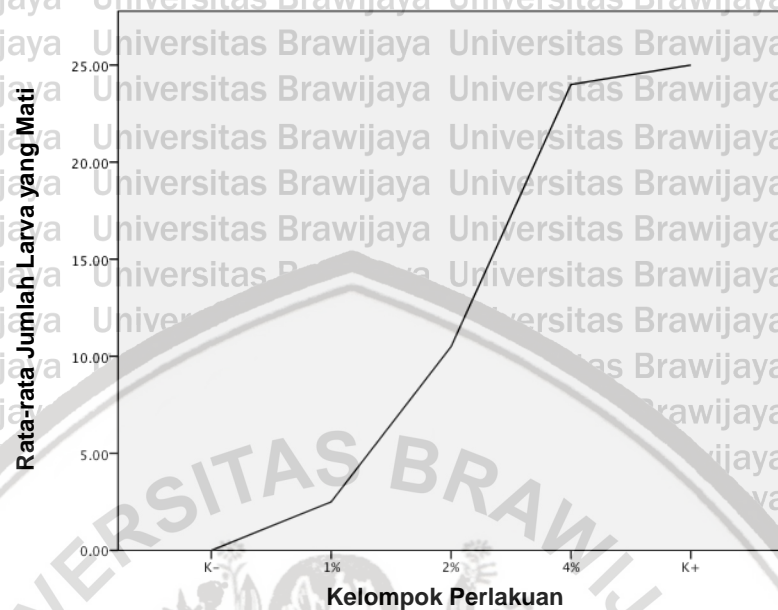
Uji efektivitas ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) sebagai biolarvasida pada larva *Aedes aegypti* instar III dilakukan dalam waktu 24 jam.

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

Perlakuan	Rata-Rata Kematian Larva dalam 24 jam	SD
K-	0	± 0
K+	25	± 0
1%	3	$\pm 1,291$
2%	11	$\pm 1,291$
4%	24	$\pm 0,816$

Berdasarkan tabel 5.1, dapat dilihat bahwa pada kontrol negatif (air sumur) tidak terdapat kematian larva. Kontrol positif (Abate 1%) terdapat kematian larva dengan jumlah 25 larva. Pada konsentrasi 1% terdapat kematian sejumlah 3 larva dan pada konsentrasi 2% jumlah kematian larva

yaitu 11. Pada konsentrasi 4% terdapat kematian berjumlah 24 larva dari 25 larva.



Gambar 5.4 Jumlah Rata-Rata Kematian Larva dalam 24 jam

Dari Gambar 5.4 dapat disimpulkan bahwa adanya perbandingan lurus antara peningkatan konsentrasi ekstrak Daun Putri Malu dengan peningkatan rata-rata jumlah larva yang mati dalam kurun waktu 24 jam.

5.3 Hasil Perhitungan *Larvicidal Activity*

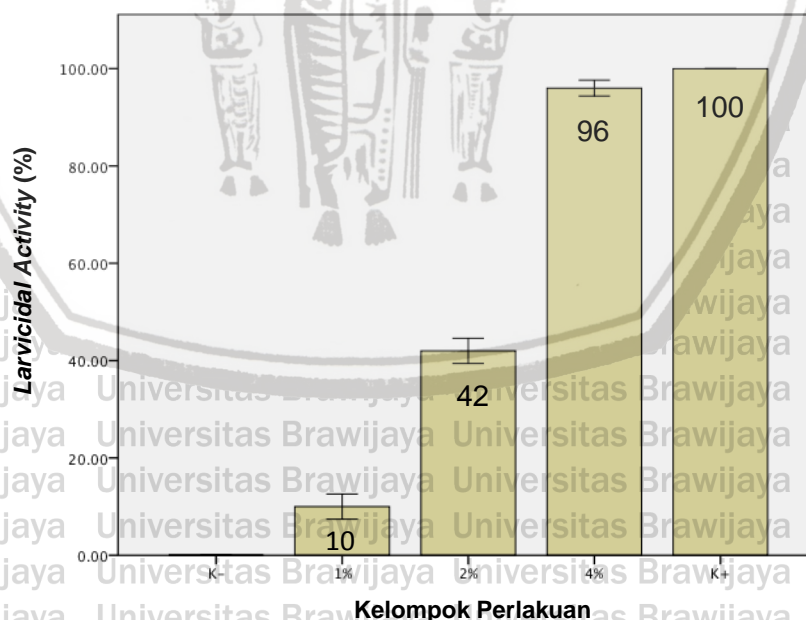
Tujuan perhitungan *larvicidal activity* adalah untuk mengetahui persentase mortalitas/kematian larva akibat ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa pudica*) pada masing-masing konsentrasi. Persentase kematian larva dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Tabel 5.2 Larvicidal activity setelah 24 jam

Pengulangan	Konsentrasi				
	K-	K+	1%	2%	4%
1	0%	100%	12%	44%	96%
2	0%	100%	4%	48%	96%
3	0%	100%	16%	40%	92%
4	0%	100%	8%	36%	100%
Rata-rata ± Standar Deviasi	0%±0	100%±0	10%±0,05	42%±0,05	96%±0,03

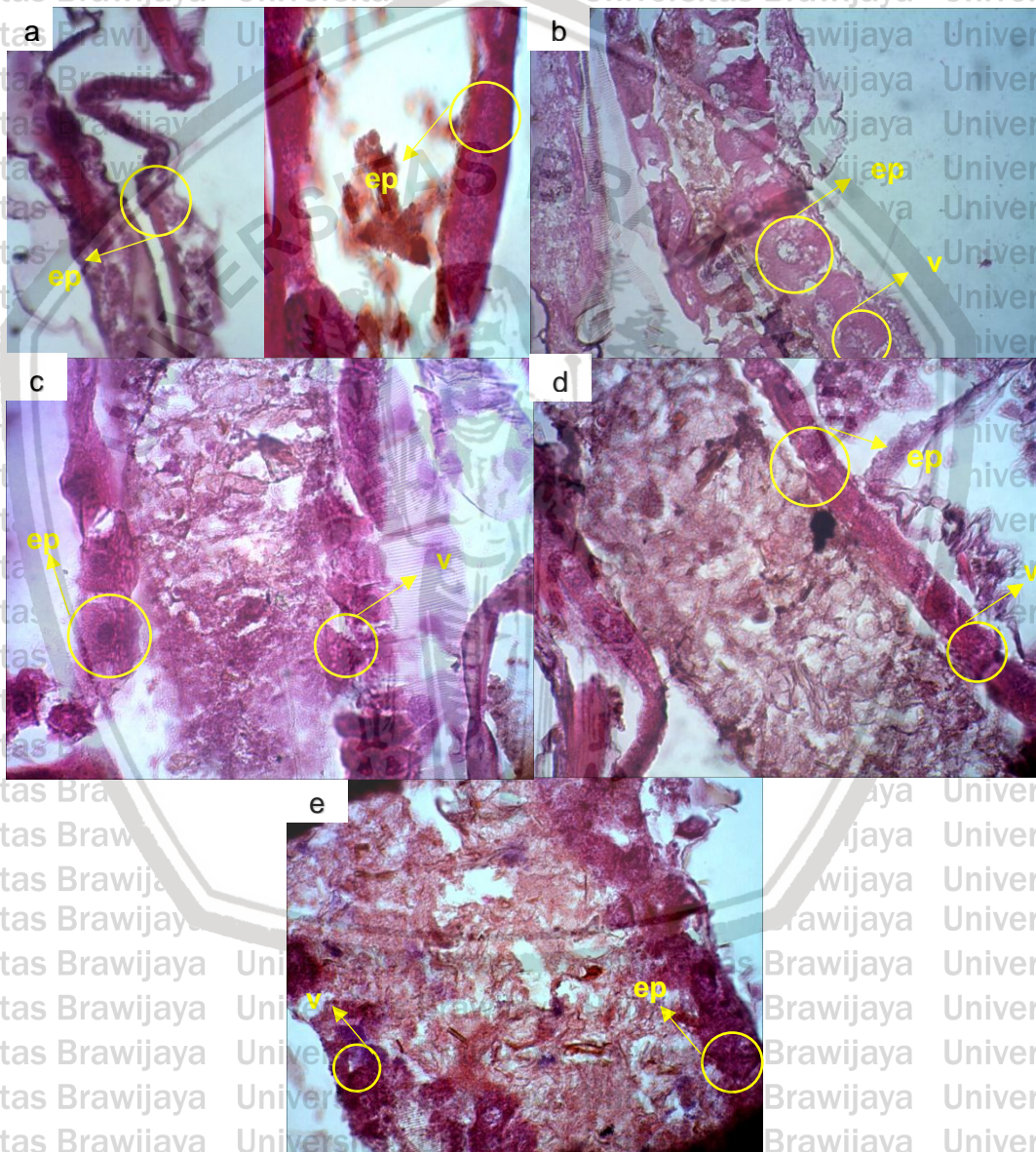
Berdasarkan tabel 5.2, diketahui bahwa persentase rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan kontrol positif (Abate 1%), yaitu 100% kematian pada larva. Rata-rata kematian larva pada konsentrasi 4% sebanyak 96%, rata-rata kematian larva pada konsentrasi 2% sebanyak 42%, rata-rata kematian larva pada konsentrasi 1% sebanyak 10%. Sedangkan rata-rata kematian larva terendah terdapat pada kontrol negatif (air sumur) sebanyak 0%.



Gambar 5.5 Larvicidal activity setelah 24 jam

Dari Gambar 5.5, dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) berbanding lurus dengan peningkatan *larvicidal activity*. Jadi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula persentase *larvicidal activity*-nya.

5.4 Hasil Pengamatan Menggunakan Mikroskop Cahaya



Gambar 5.6. Penampang Histologi Midgut Larva *Aedes aegypti* instar III yang diberi perlakuan ekstrak etanol Daun Putri Malu (*Mimosa pudica*). (a) Kontrol Negatif (b) Konsentrasi 1%, (c) Konsentrasi 2%, (d) Konsentrasi 4%, (e) Kontrol Positif, (ep) Epitel, (v) Vakuola.

Dari Gambar 5.4 dapat dilihat adanya kerusakan *midgut* larva *Aedes*

aegypti instar III setelah diberi perlakuan dalam kurun waktu 24 jam.

Kerusakan *midgut* dapat ditandai dengan adanya bentukan vakuola-

vakuola pada sitoplasma sel epitel *midgut*. Vakuola-vakuola tersebut dilihat

dan dihitung dari salah satu larva yang mati dari masing-masing

pengulangan lalu kemudian di rata-rata seperti pada tabel dibawah ini.

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

Konsentrasi	Pengulangan				Rata-rata ± SD
	1	2	3	4	
K-	0	0	0	0	0±0
1%	7	6	4	4	5±1,50
2%	13	10	8	9	10±2,16
4%	17	16	17	16	16±0,58
K+	17	20	18	16	18±1,71

Berdasarkan tabel 5.3, dapat dilihat bahwa pada kelompok kontrol

negatif tidak ditemukan adanya vakuola, yang berarti tidak terdapat adanya

kerusakan pada *midgut*. Pada perlakuan ekstrak etanol daun Putri Malu

(*Mimosa pudica*) dengan konsentrasi 1% didapatkan kerusakan pada

midgut yang dibuktikan melalui adanya vakuola yang terbentuk dengan

jumlah rata-rata 5,25. Sedangkan ekstrak dengan konsentrasi 2%

menyebabkan kerusakan *midgut* dengan rata-rata jumlah vakuola 10.

Kemudian pada konsentrasi 4% terbentuk vakuola dengan jumlah rata-rata

16,5. Sedangkan kerusakan *midgut* yang dialami oleh larva *Aedes aegypti*

pada kelompok perlakuan kontrol positif (Abate) adalah yang paling parah

dengan ditemukannya vakuola dengan jumlah rata-rata 17,75.

5.5 Analisis Data

5.5.1 Uji Distribusi Data

Sebelum melakukan uji *One way ANOVA*, data yang didapatkan harus memenuhi syarat yaitu data terdistribusi normal. Dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *one sample Kolmogorov-Smirnov test* untuk mengetahui normalitas data. Didapatkan nilai *Kolmogorov-Smirnov test* sebesar 0,237 dengan nilai signifikansi 0,004 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi normal.

5.5.2 Uji Varian Data

Selanjutnya, uji varian data dilakukan dengan menggunakan *Levene test*. Hasil yang didapat menunjukkan nilai *Levene test* sebesar 5,00 dengan nilai signifikansi $p = 0,009$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data tidak sama atau data tidak homogen. Oleh sebab itu, data tidak memenuhi syarat untuk menggunakan uji *One way ANOVA* dikarenakan walaupun data tersebut tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dan varian tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga data yang dianalisis menggunakan uji alternatif, yaitu uji *Kruskal Wallis*.

5.5.3 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* dilakukan dan didapatkan hasil nilai signifikansinya adalah 0,001 ($p < 0,05$). Hasil $p = 0,001$ menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan pada jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III pada setiap kelompok perlakuan.

5.5.4 Uji Post Hoc Mann-Whitney

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

Tabel 5.4 Hasil uji Post Hoc Mann-Whitney

Kelompok perlakuan	P value	Kemaknaan
Kontrol negatif dengan 1%	0,014	Signifikan
Kontrol negatif dengan 2%	0,029	Signifikan
Kontrol negatif dengan 4%	0,029	Signifikan
Kontrol negatif dengan kontrol positif	0,029	Signifikan
1% dengan 2%	0,029	Signifikan
1% dengan 4%	0,029	Signifikan
1% dengan kontrol positif	0,029	Signifikan
2% dengan 4%	0,029	Signifikan
2% dengan kontrol positif	0,029	Signifikan
4% dengan kontrol positif	0,114	Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.3, dapat diketahui bahwa terdapat hanya 1 pasang kelompok perlakuan yang tidak memiliki beda yang signifikan ($p > 0,05$), yaitu kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 4% dengan kontrol positif ($p = 0,114$). Sedangkan 9 kelompok lainnya memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yakni kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% ($p = 0,014$), kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% ($p = 0,029$), kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 4% ($p = 0,029$), kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif ($p = 0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan konsentrasi 2% ($p = 0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan konsentrasi 4% ($p = 0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan kontrol positif ($p = 0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% dengan

konsentrasi 4% ($p=0,029$), dan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% dengan kontrol positif ($p=0,029$).

5.5.5. Uji Probit

Uji probit dilakukan untuk menunjukkan efek mortalitas ekstrak etanol daun putri malu terhadap larva *Aedes aegypti* yang dinyatakan dalam *Lethal Concentration* (LC).

Tabel 5.5 Hasil Uji Probit
95% Confidence Limits for Konsentrasi

	Probability	Estimate
PROBIT	0.1	1.466
	0.2	1.699
	0.3	1.891
	0.4	2.071
	0.5	2.255
	0.6	2.455
	0.7	2.690
	0.8	2.992
	0.9	3.469
	0.97	4.244
	0.99	4.929

Berdasarkan hasil uji probit diatas dengan tingkat kepercayaan 95%, didapatkan bahwa konsentrasi yang mampu membunuh 100% larva (LC100) adalah 4.929%, sedangkan pada penelitian ini, konsentrasi paling tinggi yang dipakai adalah 4% yang dimana hanya mampu membunuh 96% total larva dalam kelompok perlakuan.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Salah satu cara untuk memberantas Demam Berdarah *Dengue* adalah dengan membunuh vektornya, yakni nyamuk *Aedes aegypti* sendiri. Dengan demikian salah satu bahan yang digunakan adalah Abate sebagai larvasida dari nyamuk *Aedes aegypti* agar tidak dapat berkembang menjadi nyamuk dewasa. Akan tetapi, penggunaan Abate berbahaya bagi manusia dan hewan-hewan lain di sekitarnya karena sangat beracun. Selain itu penggunaan secara terus-menerus bertahun-tahun dapat menyebabkan polusi lingkungan bahkan resistensi seperti pada negara Thailand, Perancis, dan bahkan Indonesia (Fenisenda dan Rahman, 2016).

Untuk mengatasi resistensi Abate tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang biolarvasida atau larvasida hayati yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Suatu tumbuhan mengandung suatu bahan kimia atau bioaktif yang dapat bersifat racun bagi larva, tetapi juga mudah terurai di alam sehingga tidak menimbulkan pencemaran lingkungan dan juga relatif aman bagi makhluk hidup lainnya terkhusus untuk manusia. Biolarvasida juga tidak menyebabkan resistensi dan bersifat permanen (Astriani dan Widawati, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol Daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Dari penelitian yang telah dilakukan, ditemukan kematian larva akibat pemberian ekstrak etanol Daun Putri Malu (*Mimosa*

puddica) dalam 24 jam. Larva *Aedes aegypti* dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok berjumlah 25 larva lalu kemudian dilakukan 4 kali pengulangan. Kelompok perlakuan tersebut dibagi menjadi kelompok kontrol negatif (air sumur), kelompok kontrol positif (Abate 1%), kelompok ekstrak konsentrasi 1%, kelompok ekstrak konsentrasi 2% dan kelompok ekstrak konsentrasi 4%. Pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat kematian larva dan kelompok kontrol positif rata-rata kematian larva berjumlah 25 larva (mati semua). Pada kelompok ekstrak 1% terdapat rata-rata 3 larva yang mati, kelompok ekstrak 2% terdapat rata-rata 11 larva yang mati, dan kelompok 4% terdapat rata-rata 24 larva yang mati. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol Daun Putri Malu mempunyai pengaruh sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Akan tetapi, ekstrak etanol daun Putri Malu memiliki warna yang cukup keruh.

6.2 Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Putri Malu sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Uji fitokimia pada penelitian ini telah dilakukan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu mengandung senyawa-senyawa yang dapat membunuh larva/sebagai biolarvasida. Berdasarkan uji fitokimia tersebut didapatkan bahwa, ekstrak etanol daun Putri Malu mengandung senyawa-senyawa antara lain flavonoid, saponin, dan tanin.

Adanya senyawa aktif flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga disebabkan karena senyawa flavon yang terbentuk dari reaksi itu berwarna jingga. Adanya senyawa aktif saponin yang ditandai dengan terbentuknya buih disebabkan karena saponin sendiri adalah surfaktan seperti pada deterjen sehingga dapat menghasilkan buih.

Adanya senyawa aktif tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna biru tua disebabkan karena kompleks senyawa biru prusia yang terbentuk dari reaksi itu berwarna biru tua (Marliana, dkk., 2005). Menurut Ibrahim, dkk. (2014) yang telah melakukan uji fitokimia secara kuantitatif pada daun Putri Malu di negara Nigeria, diketahui bahwa kandungan flavonoid adalah yang terbanyak, diikuti dengan kandungan tanin, dan kandungan saponin paling sedikit (Ibrahim, dkk., 2014). Namun, dalam penelitian ini tidak dilakukan uji fitokimia secara kuantitatif.

6.3 Larvicidal Activity Ekstrak Etanol Daun Putri Malu Pada Larva *Aedes*

aegypti

Perhitungan *larvicidal activity* pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase kematian/mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III akibat pemberian ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) dalam 24 jam. Kumpulan larva *Aedes aegypti* dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok berjumlah 25 larva. Kemudian masing-masing kelompok larva akan dilakukan 4 kali pengulangan. Berdasarkan hasil perhitungan *larvicidal activity* ekstrak etanol daun Putri Malu terhadap larva *Aedes aegypti* instar III, didapatkan hasil persentase rata-rata jumlah kematian larva dalam 24 jam perlakuan yaitu, kontrol negatif sebanyak 0%, ekstrak etanol daun Putri Malu 1% sebanyak 10%, ekstrak etanol daun Putri Malu 2% sebanyak 42%, dan ekstrak etanol daun Putri Malu 4% sebanyak 96% serta kontrol positif (Abate 1%) sebanyak 100%. Dari hasil penelitian tersebut dapat dilihat adanya peningkatan persentase kematian, sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berpengaruh terhadap peningkatan *larvicidal activity*.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitria &

Amilah (2015) bahwa ekstrak daun Putri Malu dengan konsentrasi 4 g/L air dapat membunuh 19 dari 25 larva *Aedes aegypti* atau 76%.

Perbedaannya adalah ekstraksi yang digunakan pada penelitian tersebut adalah air, sedangkan pada penelitian ini digunakan etanol. Menurut Azis, dkk. (2014) pelarut etanol cenderung memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan bahan aktif yang lebih banyak dalam sebuah larutan. Selain itu pelarut etanol relatif aman, karena tidak beracun.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Theodora (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan konsentrasi 2% mampu membunuh 100% larva *Aedes aegypti* dalam waktu 24 jam. Jika dibandingkan dengan penelitian tersebut, ekstrak etanol daun Putri Malu kurang efektif dalam membunuh larva dikarenakan dengan konsentrasi 4% hanya dapat membunuh 96% larva dalam 24 jam. Kedua ekstrak juga memiliki pengaruh yang berbeda terhadap kerusakan *midgut*.

Perlakuan kontrol positif yang mengandung Abate 1% pada penelitian ini mampu membunuh 100% larva dalam 24 jam, sedangkan ekstrak etanol daun Putri Malu 4% hanya mampu membunuh 96% larva dalam 24 jam. Meskipun hanya mampu membunuh 96% larva dalam 24 jam, Putri Malu 4% bila dibandingkan dengan Abate menunjukkan hasil yang tidak signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu dapat digunakan sebagai alternatif pengganti Abate sebagai biolarvasida *Aedes aegypti*.

6.4 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Putri Malu terhadap Kerusakan

Midgut dengan Menggunakan Mikroskop Cahaya

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pengecatan HE untuk melihat adanya kerusakan pada *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III. *Midgut* adalah bagian dari saluran pencernaan yang terbagi atas *midgut* anterior, sentral, dan posterior dimana mereka berada pada bagian abdomen larva.

Abdomen larva *Aedes aegypti* sendiri tersusun atas 8 segmen dimana *midgut* terletak pada segmen ke-1 hingga ke-5. Dimulai dengan *midgut* anterior atau yang disebut juga *gastric caecum* pada segmen pertama, *midgut* sentral/media yang berada pada segmen ke-2 dan ke-3, sedangkan *midgut* posterior sendiri berada pada segmen abdomen ke-4 dan ke-5. *Midgut* berfungsi sebagai tempat utama untuk penyerapan nutrisi, ion-ion, dan juga air atau yang berarti berfungsi sebagai sistem pencernaan, homeostasis ion, serta osmoregulasi. Epitel yang terdapat saluran pencernaan larva adalah epitel selapis kolumnar dengan mikrovili. Mikrovili usus terdapat pada *brush border* yang mempunyai fungsi dalam membantu penyerapan makanan. Di membran *brush border* tersebut terdapat reseptor protein spesifik yang mampu berikatan dengan toksin.

Oleh karena itu, *midgut* merupakan salah satu bagian tubuh larva yang menghubungkan larva dengan lingkungan sekitarnya (Lemos, dkk., 2018).

Apabila terjadi sedikit kerusakan pada *midgut*, maka akan terjadi gangguan absorpsi makanan serta osmoregulasi. Kerusakan pada *midgut* dapat dilihat melalui adanya kerusakan pada epitel serta munculnya vakuola-vakuola pada sitoplasma. Vakuola-vakuola pada sitoplasma sel epitel itu sendiri terjadi akibat gangguan osmoregulasi dan gangguan homeostasis ion sehingga terjadi vakuolisasi (Procópio *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil pengamatan dibawah mikroskop cahaya, terjadi perubahan struktur *midgut* secara histologis pada setiap kelompok perlakuan. Untuk kelompok perlakuan kontrol negatif tidak menunjukkan tanda-tanda adanya kerusakan *midgut*. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun putri malu 1% terbentuk vakuola dengan jumlah rata-rata 7, sedangkan kelompok ekstrak etanol daun putri malu 2% rata-rata jumlah vakuola yang terbentuk adalah 9 dan pada konsentrasi 4% terbentuk vakuola dengan jumlah rata-rata 10. Pada kelompok perlakuan kontrol positif sendiri didapatkan jumlah vakuola dengan rata-rata 18. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) dapat menyebabkan peningkatan jumlah vakuola yang terbentuk pada sel epitel *midgut*.

Kerusakan sel epitel *midgut* ini disebabkan oleh kandungan Tanin pada ekstrak daun Putri Malu (*Mimosa pudica*). Tanin dapat menurunkan aktivitas makan pada larva karena toksisitasnya terhadap sel-sel epitel yang ada di *midgut*. Integritas sel epitel pada *midgut* juga akan dirusak oleh karena Tanin karena tanin dapat meningkatkan aktivitas radikal bebas atau yang biasa disebut ROS/reactive oxygen species sehingga terjadi oksidasi pada sel epitel yang berakibat pada kerusakan sel epitel (Barbehenn dan Constabel, 2011). Tanin juga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan seperti enzim protease dan enzim amilase serta mengikat protein yang diperlukan tubuh sehingga dapat menghambat proses penyerapan protein (Dinata, 2009; Minami et al., 2013). Hal tersebut menyebabkan penurunan konsumsi makanan sehingga pertumbuhan larva akan terganggu (Yunita, dkk., 2009).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Putri Malu menyebabkan kerusakan pada *midgut* larva *Aedes*

aegypti instar III yang ditandai dengan kerusakan epitel *midgut* akibat kandungan senyawa Tanin. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Procópio *et al.* (2015) bahwa terjadi kerusakan pada *midgut* larva *Aedes aegypti* setelah terpapar oleh ekstrak daun lada merah (*Schinus terebinthifolius*) yang juga mengandung tanin.

6.5 Hasil Analisis Data dan LC100

Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* yang telah dilakukan, didapatkan hasil nilai $p=0,001$ ($p<0,05$). Hasil tersebut menunjukkan adanya perbedaan rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III yang signifikan pada tiap-tiap kelompok perlakuan, yang berarti ekstrak etanol daun Putri Malu berpengaruh pada rata-rata jumlah kematian larva.

Selanjutnya, dilakukan uji *Mann-Whitney* yang bertujuan membandingkan rata-rata jumlah kematian larva antar kelompok perlakuan dengan kelompok perlakuan lain. Terdapat 9 kelompok yang memiliki perbedaan signifikan yaitu antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% ($p=0,014$), kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% ($p=0,029$), kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 4% ($p=0,029$), kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif ($p=0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan konsentrasi 2% ($p=0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan konsentrasi 4% ($p=0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dengan kontrol positif ($p=0,029$), kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% dengan konsentrasi 4% ($p=0,029$), dan kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 2% dengan kontrol positif ($p=0,029$).

Sedangkan hanya ada 1 kelompok perlakuan yang tidak memiliki beda

yang signifikan ($p > 0.05$), yaitu antara kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 4% dengan kontrol positif ($p = 0,114$).

Uji probit dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun Putri Malu yang dapat menyebabkan 100% kematian adalah 4.929%. Sedangkan pada penelitian ini, konsentrasi tertinggi yang dipakai adalah 4% dan hanya dapat membunuh 96% total larva, sehingga dibutuhkan ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) dengan konsentrasi lebih dari 4% untuk dapat membunuh 100% larva *Aedes aegypti* instar III.

6.6 Keterbatasan Penelitian

Dari penelitian yang telah dilakukan, ada beberapa keterbatasan dalam penelitian yang dialami. Yang pertama adalah tidak dilakukannya uji kuantitatif kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak etanol daun Putri Malu. Kemudian, uji toksisitas ekstrak etanol daun Putri Malu pada konsentrasi tinggi untuk mengetahui efek samping bagi manusia juga belum dilakukan. Selain itu, warna keruh yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun Putri Malu sebagai biolarvasida pengganti Abate pada air untuk kebutuhan sehari-hari juga merupakan kelemahan penelitian ini, sehingga memerlukan zat seperti karbon aktif yang mampu menjernihkan air tersebut.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) mempunyai efek biolarvasida yang mampu membunuh larva *Aedes aegypti* instar III.
2. Ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang mampu bekerja sebagai biolarvasida.
3. *Larvicidal activity* ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) dengan konsentrasi 4% sebanyak 96% dalam 24 jam.
4. Ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) secara histologis mampu menyebabkan kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui efek samping ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) terhadap manusia bila digunakan sebagai biolarvasida.
2. Perlu dilakukan pencarian bahan/zat yang mampu menjernihkan ekstrak etanol daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) apabila dilarutkan dalam air sebagai biolarvasida.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, R. 2015. Daya Bunuh Air Perasan Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) Terhadap Kematian Larva *Aedes Aegypti*. Skripsi. Fakultas Ilmu Keolahragaan. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Ambarwati, I. A., Wahyuni, D., Pujiastuti. 2014. Toksisitas Ekstrak Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa Tahun 2014*, pp. 4–7.
- Arsin, A. 2013. Epidemiologi Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia. Makassar : Masagena Press.
- Astalakshmi, N., Kumar S., Akshaya, M., Irfana, C., Rajpriya, U. 2016. Evaluation Of *Mimosa Pudica* Linn And *Dioscorea Alata* Linn For Its Larvicidal Activity, 5(7), pp. 1967–1970. doi: 10.20959/wjpps20167-7277.
- Astriani, Y. dan Widawati, M. 2016. Potensi tanaman di Indonesia sebagai larvasida alami untuk *Aedes aegypti*. *Balaba*, 8(2), pp. 37–46. doi: 10.22435/spirakel.v8i2.6166.37-46.
- Azis, T., Febrizky, S., Mario, A. D. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Alkaloid dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia No. 2, Vol 20*, pp. 3-5.
- Barbehenn, R. V. dan Constabel, C. P. 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry*. doi: 10.1016/j.phytochem.2011.01.040.
- Candra, A. 2010. Demam Berdarah Dengue : Epidemiologi , Patogenesis , dan Faktor Risiko Penularan. *Aspirator Vol II No 2*, pp. 110-118.
- CDC. 2012. Mosquito Life Cycle *Aedes aegypti*. *National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Disease*.
- Chahaya, I. 2003. Pemberantasan Vektor Demam Berdarah di Indonesia. *Digitized by USU Digital Library*, pp. 1–8.
- Dinata, A. 2008. Ekstrak Kulit Jengkol Atasi Jentik DBD. <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/ins/article/view/3172> (Diakses tanggal 14 Oktober 2018).
- Ding, X., Ouyang, M., Liu, X., Wang R. 2013. Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Flavonoids from the Leaves of *Ginkgo biloba* against Brown Planthopper. *Journal of Chemistry*. doi: 10.1155/2013/645086.
- Fenisenda, A. dan Rahman, A. O. 2016. Uji Resistensi Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Terhadap Abate (Temephos) 1 % Di Kelurahan Mayang Mangurai Kota Jambi Pada Tahun 2016. *Jmj*, 4(2), pp. 101–105.

Fitria, E. dan Amilah, S. 2015. LC50 Dari Ekstrak Daun Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) Terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti* L.) dan Larva Nyamuk Malaria (*Anopheles* sp.). *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 8(01), pp. 5–8.

Fitriyani, R. N. 2017. Larvicida Activity Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (*Mimosa pudica*) Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Melalui Kerusakan Perispiracular Lobe. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya, Malang.

Goławska, S. Sprawka, I., Łukasik, I., Goławska, A. 2014. Are naringenin and quercetin useful chemicals in pest-management strategies?. *Journal of Pest Science*. doi: 10.1007/s10340-013-0535-5.

Hairani, L. K. 2009. Gambaran Epidemiologi Demam Berdarah Dengue (DBD) Dan Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Angka Insidennya Di Wilayah Kecamatan Cimanggis, Kota Depok Tahun 2005-2008. Tugas Akhir. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Indonesia, Jakarta.

Ibrahim, D., Muhammad, I., Ashiru, S., Sani, I., Shehu, K., Aliero, A.A., Aliyu, R.U. 2014. Qualitative and Quantitative Phytochemical Screening of *Mimosa Pudica* Plant Extract (Touch Me Not). *American Journal of Biological Chemistry*, 2(2), pp 8-16.

Joseph, B., George, J. dan Mohan, J. 2013. Pharmacology and Traditional Uses of *Mimosa pudica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*.

Kemenkes 2012. *Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) Dalam Pengendalian Vektor*. Jakarta.

Kementerian Kesehatan RI 2010. Demam Berdarah Dengue. *Buletin Jendela Epidemiologi*. doi: ISSN 2442-7659.

Kementerian Kesehatan RI 2017. Kemenkes Optimalkan PSN Cegah DBD. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.

Kemkes RI 2016. Profil Kesehatan Indonesia 2016. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. doi: 10.1037/0022-3514.51.6.1173.

Lemos, A. *et al.* 2018. Histological and Histochemical Characterization of the Midgut of Healthy *Aedes aegypti* Larvae. *Annual Research & Review in Biology*, 22(1), pp. 1–15. doi: 10.9734/ARRB/2018/37443.

Marliana, S.D., Suryanti, V., Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi Vol 3 No 1*, pp 26-31. Surakarta.

Murshida, B. *et al.* 2015. Efficacy of *Bacillus Thuringiensis* Var . *Israelensis* Against the Larvae of *Aedes*. *J. Asiat. Soc. Bangladesh, Sci.*, 41(1), pp. 33–44.

Noshirma, M. dan Willa, R. W. 2016. Larvasida Hayati Yang Digunakan Dalam Upaya Pengendalian Vektor Penyakit Demam Berdarah di Indonesia. *Sel*, 3(1), pp. 31–40.

Nugroho, A. D. 2013. Kematian Larva *Aedes Aegypti* Setelah Pemberian Abate Dibandingkan Dengan Pemberian Serbuk Serai. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* Vol 7, No 1, pp 2-5.

Palgunadi, B. U. 2009. *Aedes aegypti* sebagai Vektor Penyakit Demam Berdarah Dengue. *Universitas Wijaya Kusuma Surabaya*. doi: 10.1001/jama.280.15.1367- JBK1021-2-1.

Perumalsamy, H. *et al.* 2013. Novel Histopathological And Molecular Effects of Natural Compound Pellitorine on Larval Midgut Epithelium and Anal Gills of *Aedes aegypti*, *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0080226.

Pradani, F. Y. 2009. Indeks Pertumbuhan Larva *Aedes aegypti* L . Yang Terdedah Dalam Ekstrak Air Kulit Jengkol (*Pithecellobium lobatum*), (3), pp. 81–86.

Pradipta, A. 2011. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Sansevieria trifasciata* Prain Terhadap *Staphylococcus aureus* IFO 13276 dan *Pseudomonas aeruginosa* IFO 12689', *E Journal Uajy*.

Procópio, T. F. *et al.* 2015. *Schinus terebinthifolius* Leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0126612.

Rathy, M.C., Sajith, U., Harilal, C.C. 2015. Plant diversity for mosquito control : A preliminary study, 2(1), pp. 29–33.

Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis, *Jurnal Berlin*. doi: 10.1186/2110-5820-1-7.

Soegijanto, S. 2006. Demam Berdarah Dengue Edisi 2. Surabaya: Penerbit Airlangga University Press.

Suparjo, 2008. Saponin : Peran dan Pengaruhnya bagi Tanah dan Manusia. Laboratorium Makanan Ternak. Tugas Akhir. Fakultas Peternakan. Universitas Jambi, Jambi.

Sujarnoko, T.U.P. 2015. Penambahan Ekstrak Tanin Asal Chesnut Pada Ransum Terhadap Performa Domba, Pola Fermentasi Dan Metabolit Darah. Tesis. Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor, p. 42.

Theodora, L. 2018. Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar Ili Melalui Kerusakan Midgut. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya, Malang.

Trisnawati, A. G. dan Rahayuningsih, F. B. 2009. Analisis Faktor Resiko Kejadian Demam Berdarah Dengue di Desa Mojosongo Kabupaten Boyolali. *Eksplanasi Vol 5 No 2*, p. 12.

War, A. R. et al. 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*. doi: 10.4161/psb.21663.

WHO, 2005. Guidelines For Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. WHO Communicable Disease Control, Prevention and Eradication.

Yunita, E. A., Suprpti, N. H., Hidayat, J. W. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, 11(1), pp. 11–17.

Zettel, C. dan Kaufman, P. 2016. Yellow fever mosquito - *Aedes aegypti*. IFAS Extension, pp 1–8.

