

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

Wardana Abdullah Bakhrudinsyah Kusuma¹, Endharti Agustina Tri², Laksono Ristiawan Muji³

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Departemen Parasitologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³Departemen Anestesiologi dan Reanimasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang, Indonesia

ABSTRAK

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

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

ABSTRACT

Aedes aegypti is a vector of dengue hemorrhagic fever (DHF). Vector control is important in preventing and reducing the occurrence of DHF transmission by breaking the life cycle at their habitat. One of the frequently used methods is the using of abate. However, repeated use of abate causes resistance. So, mosquito biological control was needed to replace the use of abate. By using mangosteen peel (*Garcinia mangostana L.*) which is known to contain active ingredients such as tannins, flavonoids and saponins that are able to kill larvae. The purpose of this study was to investigate the effect of mangosteen peel extract as biolarvicide of *Aedes aegypti* instar III through membrane damage. The study design used in this research was true experimental post-test only control group design. A total of 500 larvae were sampled and divided into five groups: negative control group (well water), positive control (abate 1%), and different concentrations of mangosteen peel extract (0.5%, 1% and 2%), respectively. Larval mortality was observed after 24 hours. The extract of 2% mangosteen peel showed the

highest larvicidal effect. Membrane damage was observed using flow cytometry with propidium iodide (PI) staining. The staining showed membrane damage characterized by the formation of red fluorescent in the results of flow cytometry. Data analysis using Kruskal-Wallis test was showed a significance ($p=0.002$). It can be concluded that the ethanol extract of mangosteen peel has an effect as biolarvicide of *Aedes aegypti* instar III.

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

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue, dengan gambaran klinis demam tinggi mendadak, lemah/lesu, trombositopenia, gejala pendarahan, dan dapat menimbulkan shock hingga kematian¹. Penyakit ini banyak ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Data dari seluruh dunia menunjukkan Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita DBD setiap tahunnya. Sementara itu, terhitung sejak tahun 1968 hingga tahun 2009, World Health Organization (WHO) mencatat negara Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara².

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor DBD. Pengendalian vektor menjadi salah satu hal penting dalam mencegah dan mengurangi terjadinya penularan penyakit, yaitu dengan memutus siklus hidup pada tempat-tempat pertumbuhannya. Larva *Aedes aegypti* sering ditemukan pada air jernih yang tergenang³.

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

menerus, kejang dan akhirnya larva akan mati⁴. Penggunaan abate sebagai larvasida dimulai sejak tahun 1976 dan sejak 1980 abate telah digunakan secara massal untuk program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia. Namun, penggunaan abate secara berulang dapat menimbulkan resistensi⁵.

Salah satu usaha untuk mengatasi masalah resistensi tersebut adalah dengan cara menemukan insektisida alami yang lebih efektif terhadap pertumbuhan larva *Aedes aegypti*. Penggunaan larvasida alami atau biolarvasida dianggap aman karena memanfaatkan tanaman yang bersifat racun terhadap larva nyamuk⁶.

Salah satu tanaman yang bisa digunakan untuk dikembangkan sebagai biolarvasida adalah kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.), karena mengandung beberapa senyawa aktif seperti tanin, flavonoid dan saponin⁷. Senyawa tanin bekerja dengan cara menghambat proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan larva dengan menurunkan aktivitas enzim dalam sistem pencernaan⁸. Senyawa flavonoid bekerja sebagai racun pernapasan⁹. Senyawa saponin dapat merusak membran larva *Aedes aegypti*¹⁰.

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

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk

mengetahui *larvicidal activity* ekstrak etanol kulit manggis terhadap larva *Aedes aegypti* instar III.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria Inklusi: larva *Aedes aegypti* instar III dengan ukuran larva 4-5 mm. Kriteria Eksklusi: larva *Aedes aegypti* instar III yang mati dan gerakannya kurang aktif atau kurang berespons saat disentuh.

Sampel berjumlah 500 larva dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif (air sumur), 3 kelompok diberi ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% dan 1 kelompok kontrol positif (abate 1%). Jumlah larva dalam tiap kelompok perlakuan berdasarkan pedoman WHO yaitu sejumlah 25 larva.

Penelitian ini menggunakan variabel independen dan variabel dependen. Variabel independen yaitu jumlah konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada setiap kelompok perlakuan. Sedangkan variabel dependen yaitu jumlah larva *Aedes aegypti* instar III yang mati setelah direndam

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

Analisis data dengan menggunakan program SPSS versi 16.0. Data yang telah ditabulasikan kemudian dihitung reratanya. Untuk menilai distribusi data dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov test*, kemudian dilakukan uji homogenitas dengan *Levene test*. Untuk analisis data digunakan analisis non-parametrik *Kruskal Wallis Test*. Serta dilakukan *Mann-whitney test* untuk membandingkan antar 2 kelompok perlakuan.

HASIL

Uji bahan aktif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bahan aktif tanin, flavonoid, dan saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit manggis dan didapatkan hasil positif.

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

Tabel 1. Rerata Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* Instar III dan *Larvicidal Activity* Setelah 24 Jam Perlakuan Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan Berbagai Konsentrasi

PK	Kontrol (-) (Air Sumur)		Ekstrak Etanol Kulit Manggis						Kontrol (+) (Abate 1%)	
			0,5%		1%		2%			
	Jumlah Kematian Larva	<i>Larvicidal activity</i>	Jumlah Kematian Larva	<i>Larvicidal activity</i>	Jumlah Kematian Larva	<i>Larvicidal activity</i>	Jumlah Kematian Larva	<i>Larvicidal activity</i>	Jumlah Kematian Larva	<i>Larvicidal activity</i>
1	0	0%	21	84%	24	96%	25	100%	25	100%
2	0	0%	24	96%	24	96%	25	100%	25	100%
3	0	0%	23	92%	23	92%	25	100%	25	100%
4	0	0%	23	92%	25	100%	25	100%	25	100%
Rerata ± SD	0 ± 0	0% ± 0	23 ± 1,26	91% ± 0,05	24 ± 0,82	96% ± 0,03	25 ± 0	100% ± 0	25 ± 0	100% ± 0

Keterangan: PK= pengulangan ke

Berdasarkan tabel 1 didapatkan pada kelompok perlakuan 0,5% ekstrak etanol kulit manggis rata-rata jumlah kematian larva

sebanyak 23 larva. Dengan meningkatnya konsentrasi pemberian ekstrak etanol kulit manggis rata-rata jumlah kematian larva juga

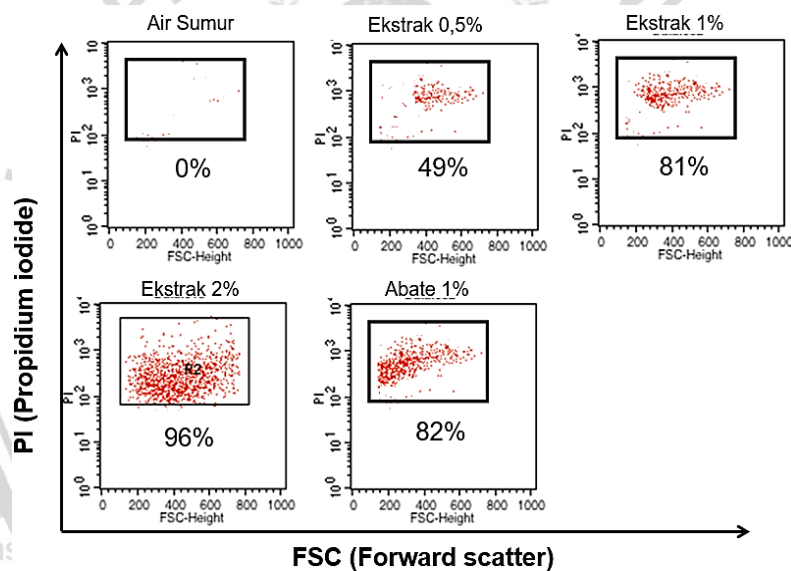


meningkat, pada kelompok 1% ekstrak etanol kulit manggis sebanyak 24 larva mati dan pada kelompok 2% ekstrak etanol kulit manggis sebanyak 25 larva mati. Sedangkan pada kelompok perlakuan kontrol negatif tidak didapatkan larva yang mati. Pada kelompok kontrol positif didapatkan larva yang mati sebanyak 25 larva.

Uji *larvicidal activity* bertujuan untuk melihat persentase kematian larva setelah diberi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus persentase mortalitas larva, didapatkan hasil seperti pada tabel 1 bahwa persentase rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* tertinggi terdapat pada kelompok

perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 2% dan kelompok kontrol positif dengan persentase sebesar 100%. Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 1% rata-rata kematian larva sebanyak 96%, untuk kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% kematian larva sebanyak 91%. Sedangkan rata-rata kematian larva terendah terdapat pada kelompok perlakuan kontrol negatif sebanyak 0%.

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



Gambar 1. Hasil Flowcytometry larva dengan pewarnaan PI

Berdasarkan gambar 1 terlihat bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat adanya kerusakan pada membran sehingga didapatkan hasil *propidium iodide* (PI) 0% pada hasil *flow cytometry*. Hal ini menunjukkan jika PI akan terikat pada DNA dan memberikan hasil fluoresens merah hanya pada sel yang mengalami kerusakan membran, karena PI tidak bisa menembus membran yang masih utuh. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5% terdapat kerusakan membran

yang ditunjukkan melalui PI yang terwarna pada DNA larva dengan rata-rata yaitu 49%. Ekstrak dengan konsentrasi 1% menyebabkan kerusakan membran dengan rata-rata 81% serta pada ekstrak 2% PI yang terwarna menunjukkan rata-rata tertinggi dibanding kelompok perlakuan yang lain yaitu sebanyak 96%. Sedangkan pada kelompok kontrol positif menunjukkan sebesar 82%. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 2% mempunyai efektivitas merusak membran larva

Aedes aegypti instar III yang lebih tinggi dibanding kelompok kontrol positif.

PEMBAHASAN

Salah satu biolarvasida yang dapat digunakan yaitu kulit manggis. Hasil dari ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung beberapa senyawa aktif seperti tanin, flavonoid dan saponin yang mampu membunuh larva nyamuk. Senyawa tersebut dapat mengganggu proses metabolisme, pertumbuhan bahkan dapat membunuh larva *Aedes aegypti*¹¹.

Pada penelitian ini telah dilakukan uji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak etanol kulit manggis. Berdasarkan uji bahan aktif yang telah dilakukan, membuktikan bahwa terdapat kandungan tanin, flavonoid dan saponin dalam ekstrak etanol kulit manggis¹².

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Berdasarkan penelitian ini, dilakukan pengamatan terhadap adanya kematian larva setelah 24 jam diberi perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (direndam dalam air sumur) tidak didapatkan kematian larva. Kematian larva ditandai dengan larva tidak dapat bergerak atau tidak berespons saat disentuh¹³. Pada kelompok kontrol negatif larva tetap hidup semua karena dalam air sumur tidak didapatkan bahan aktif yang bersifat racun terhadap larva. Berbeda halnya pada kelompok ekstrak kulit manggis 0,5% terdapat rata-rata jumlah larva yang mati yaitu 23 larva, pada ekstrak 1% sejumlah 24 larva yang mati, dan pada ekstrak 2% sebanyak 25 larva yang mati. Sedangkan, pada kelompok kontrol positif (direndam dengan abate 1%) rata-rata jumlah larva yang mati adalah 25 larva. Sehingga dapat disimpulkan bahwa didalam ekstrak etanol kulit manggis dan abate 1% terdapat zat aktif yang bersifat racun bagi larva sehingga menyebabkan larva mati. Oleh karena itu, ekstrak etanol kulit

manggis dapat dijadikan sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*¹².

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang menggunakan ekstrak etanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca*) sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Sama halnya dengan kulit manggis, kulit pisang raja juga mengandung senyawa aktif flavonoid dan saponin yang dapat mengganggu kerja enzim larva dan bersifat toksik bagi larva *Aedes aegypti*¹⁴. Penelitian lain yang dilakukan menggunakan ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) sebagai insektisida alami dan mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan alkaloid yang merupakan zat toksik bagi larva sehingga menyebabkan kematian larva¹⁵.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap kerusakan membran larva *Aedes aegypti* instar III menggunakan *flow cytometry*, dengan *propidium iodide* (PI) sebagai tanda adanya kerusakan membran. PI tidak dapat masuk ke dalam sel dengan membran sel yang masih utuh, PI dapat mewarnai DNA apabila telah terjadi kerusakan pada membran sel akibat hilangnya integritas membran¹⁶. *Flow cytometry* dapat digunakan untuk mendeteksi sel yang mengalami hilangnya integritas dan permeabilitas membran serta kematian sel dengan PI. PI adalah molekul fluoresens kecil yang berikatan dengan DNA. Sel yang mengalami kematian dan kerusakan sel akan menjadi permeabel terhadap PI, sedangkan sel yang *viable* tidak. Protokol untuk parameter PI ini dapat digunakan untuk menghitung kematian sel.

Kemampuan PI untuk masuk ke dalam sel dan mewarnai sel tergantung pada integritas membran sel, PI tidak dapat masuk ke dalam sel yang sehat atau pada awal apoptosis karena membran sel yang masih intak. Pada sel yang mengalami nekrosis, terjadi penurunan integritas membran sel dan *nuclear membrane*, memungkinkan PI untuk masuk ke dalam sel dan berikatan dengan asam nukleat sehingga menghasilkan fluoresens berwarna merah¹⁷.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan:

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

SARAN

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

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue*. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Jakarta, Hal. 18-60.
2. Rasyada A., Nasrul E., dan Edward Z. Hubungan Nilai Hematokrit Terhadap Jumlah Trombosit pada Penderita Demam Berdarah Dengue. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2014, 3(3): 344.
3. Sahrir N., Ishak H., dan Maidin A. Pemetaan Karakteristik Lingkungan dan Densitas Nyamuk *Aedes aegypti* Berdasarkan Status Endemisitas DBD di

Kecamatan Kolaka. *JST Kesehatan*, 2016, 6(1): 70-75.

4. Kemabonta K.A. dan Nwankwo A.E. Larvicidal Effectiveness of Spinosad And Temephos on *Anopheles gambiae* & *Aedes aegypti*. *International Journal of Science and Nature*, 2013, 4(2): 214-222.
5. Mulyatno K.C., Yamanaka A., Ngadino, dan Konishi E. Resistance of *Aedes aegypti* Larvae to Temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2012, 43(1): 29-33.
6. Borah R., Kalita M.C., Goswami R.Ch., dan Talukdar A.K. Larvicidal Efficacy of Crude Seed Extracts of Six Important Oil Yielding Plants of North East India against the Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Biofertilizers & Biopesticides*, 2012, 3(2): 1.
7. Puspitasari L., Swastini D.A., dan Arisanti C.I.S. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2013, 2(3).
8. Haditomo I. 2010. *Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum L.) Terhadap Aedes aegypti L.* Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
9. Nugroho A., Setyaningrum E., Wintoko R., dan Kurniawan B. Pengaruh Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Perkembangan Larva *Aedes aegypti* Instar III. *Medical Journal of Lampung University*, 2014, 3: 1.
10. Yunita E.A., Suprapti N.H., dan Hidayat J.W. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *BIOMA*, 2009, 11 (1): 11.
11. Poeloengan M., dan Praptiwi. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana Linn)*. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 2010, 20(2): 1-10.

12. Indarto. 2011. *Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik Dari Kulit Dan Kayu Batang Tumbuhan Atrocarpus dadah Miq.* Tugas Akhir. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung.
13. WHO. 2005. *Guidelines For Laboratory And Field Testing Of Mosquito Larvacides*, WHO, Geneva, Hal.10.
14. Jamal S.A.N., Susilawaty A., dan Azriful A. Efektivitas Larvasida Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca*) Terhadap Larva *Aedes sp.* Instar III. *Higiene*, 2016, 2(2): 67-72.
15. Cania E.B. dan Setyaningrum E. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. *Medical Journal Of Lampung University*, 2013, 2(4): 1-5.
16. Crowley L.C., Scott A.P., Marfell B.J., Boughaba J.A., Chojnowski G., dan Waterhouse N.J. Measuring Cell Death by Propidium Iodide Uptake and Flow Cytometry. *Pubmed*, 2016, 7: 1-5.
17. Rieger A.M., Nelson K.L., Konowalchuk J.D., dan Barreda D.R. Modified Annexin V/Propidium Iodide Apoptosis Assay For Accurate Assessment of Cell Death. *Jove*, 2011, 50: 1-4.

