



KOMBINASI EKSTRAK DAUN TAPAK DARA (*Catharanthus roseus*) DAN DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) SEBAGAI BIO-LARVASIDA

Mei Ahyanti¹, Prayudhy Yushananta²

^{1,2} Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Tanjung Karang

Artikel Info :

Received 9 Desember 2022

Accepted 17 Desember 2022

Available online 31

Desember 2022

Editor: Ahmad Fikri

Keyword :

Annona muricata;
Catharanthus roseus;
larvicides; flavonoids;
mortality

Kata kunci :

Sirsak; tapak dara; larvasida;
flavonoid; mortalitas



Ruwa Jurai: Jurnal Kesehatan Lingkungan is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](#).

Abstract

Currently, DHF disease control still prioritizes chemical methods. In addition to resistance, chemical pesticides harm human health, non-target insects, and the environment. The research aimed to develop larvicides from *Catharanthus roseus* leaf (CrL) and *Annona muricata* leaf (AmL) extracts. The study used a factorial complete randomized design with two replications. CrL and AmL extraction was carried out by maceration using ethanol solvent, and then the flavonoid content was analyzed. A total of 1,000 instar-III larvae of *Aedes aegypti* were used during the experiment to assess the effect of formula (5 levels), dose (5 levels), and exposure time for 48 hours. Two-way ANOVA analyzed all data (total 250 data) at alpha=5%. The study found the highest flavonoid content in DS extract (11.85 Mg QE/g ex). Statistical analysis showed that the three research variables had a significant effect on the mortality of *Ae. aegypti* (*p*-value <0.01), with a positive ridge pattern. The highest mortality was at F-5 (max=27.5%), D-5 (max=27.5%), and the exposure time was at T4 and T-5 (max=25%). Overall, the 2.5% dose of AmL extract and exposure for 42 hours, had the greatest effect on the mortality of *Ae. aegypti*. The study has proven that AmL extract can provide a good mortality effect as a biolarvicide. On the other hand, the addition of AmL extract increased the performance of CrL extract (maximum 500%) on the mortality of *Ae. aegypti*.

Saat ini, pengendalian penyakit DBD masih mengutamakan cara kimia. Selain resistensi, pestisida kimia berdampak negatif terhadap kesehatan manusia, serangga non-target, dan lingkungan. Penelitian bertujuan mengembangkan larvasida dari ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) dan daun sirsak (*Annona muricata*). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial, dengan dua kali ulangan. Ekstraksi ekstrak daun tapak dara (DTD) dan daun sirsak (DS) dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut ethanol, selanjutnya dilakukan analisis kandungan flavonoid. Total 1.000 ekor larva *Aedes aegypti* instar-III digunakan selama percobaan, untuk menilai pengaruh formula (5 level), dosis (5 level), dan waktu paparan selama 48 jam. Keseluruhan data (total 250 data) dianalisis dengan Two-way ANOVA pada alpha=5%. Penelitian mendapatkan kandungan flavonoid tertinggi pada ekstrak DS (11,85 Mg QE/g eks). Analisis statistik menunjukkan ketiga variabel penelitian berpengaruh signifikan terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* (*p*-value<0,01), dengan pola bubungan positif. Mortalitas tertinggi pada F-5 (maks=27,5%), D-5 (maks=27,5%), dan waktu paparan pada T4 dan T-5 (maks=25%). Secara keseluruhan, penggunaan ekstrak DS dosis 2,5%, dan paparan selama 42 jam dapat memberikan efek terbesar terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*. Penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak DS mampu memberikan efek mortalitas yang baik sebagai biolarvasida. Di sisi lain, kombinasi bahan mampu meningkatkan kinerja ekstrak DTD terhadap mortalitas *Ae. aegypti*.

* Corresponding author: Prayudhy Yushananta
Jl. Soekarno Hatta No.6, Bandar Lampung, Lampung 35144
Email: prayudhyyushananta@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis sehingga memiliki resiko tinggi terhadap penyakit-penyakit berbasis lingkungan, termasuk penyakit-penyakit

yang ditularkan melalui vektor, seperti malaria, chikungunya, filariasis, dan Demam Berdarah Dengue (DBD) (Dompas et al., 2020; Juhanudin & Leksono, 2013; Wahyono et al., 2010). Temperatur

udara yang hangat karena paparan sinar matahari sepanjang tahun, tingginya curah hujan dan kelembaban udara, merupakan faktor lingkungan yang berhubungan langsung dengan populasi vektor dan *Exterinsik Incubation Periode/EIP* (Yushananta, 2021; Yushananta et al., 2020; Yushananta & Ahyanti, 2014).

Penyakit DBD disebabkan oleh virus *Dengue* yang masuk dalam famili *Flaviviridae* dan genus *Flavivirus*, ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (Lloyd, 2003; Naish et al., 2014; World Health Organization, 2011; Yushananta, 2021). Sampai saat ini DBD masih ada masalah kesehatan dunia karena menyebabkan kematian yang tinggi, terutama pada anak-anak (Gubler, 2012). Diperkirakan 3,6 miliar orang berisiko, 230 juta terinfeksi, dan 21.000 kematian (Gubler, 2012; Halasa et al., 2012; Naish et al., 2014).

Sejalan dengan kondisi global, DBD juga menjadi beban kesehatan masyarakat yang tinggi di Indonesia. Dari tahun ke tahun dilaporkan jumlah kasus tetap tinggi, dengan penyebaran yang semakin meluas (Mufarida, 2020; Yushananta et al., 2020). Pada tahun 2020, *Incidence Rate (IR)* DBD sebesar 40 per 100.000 penduduk, jauh meningkat dibandingkan tahun 2011 ($IR = 27,7$ per 100.000 penduduk). Sedangkan berdasarkan jumlah kabupaten/kota, sebanyak 477 (98,7%) kabupaten/kota terjangkit DBD pada tahun 2020 (Kemenkes RI, 2021).

Menurut World Health Organization (2011), selama belum ditemukan obat dan vaksin untuk menyembuhkan penyakit, maka upaya paling efektif dalam pengendalian DBD adalah melalui pemberantasan vektor. Saat ini, pemberantasan vektor terutamadilakukan dengan metode pengasapan (*fogging*) dan *lavageidal* menggunakan bahan-bahan kimia (Hidayati & Suprihatini, 2020; Wahyono et al., 2010; Yushananta, 2021; Yushananta et al., 2020). Walaupun memberikan hasil yang efektif, namun penggunaan bahan kimia secara terus-menerus dapat memberikan dampak negatif, baik terhadap manusia, serangga non-target, dan lingkungan (Pratama & Yushananta, 2021; Putri & Yushananta, 2022; Yuniar et al., 2017; Yushananta & Ahyanti, 2021). Salah satu cara yang paling aman adalah dengan menggunakan bahan alami dari tanaman yang mempunyai efek racun terhadap serangga, namun tidak menimbulkan

efek samping terhadap manusia dan lingkungan (Benelli & Beier, 2017; Pratama & Yushananta, 2021; Senthil-Nathan, 2020; Tennyson et al., 2012; Yushananta & Ahyanti, 2021).

Pengembangan pestisida alami sangat potensial di Indonesia, mengingat keanekaragaman hayati yang tumbuh (Dadang et al., 2007; Kurniati et al., 2018; Suanda, 2014). Dalam ekstrak tumbuhan, selain senyawa aktif utama juga terdapat senyawa lain yang kurang aktif, namun dapat meningkatkan aktivitas ekstrak secara keseluruhan (efek sinergi). Sehingga lebih kecil kemungkinannya menjadi resisten, karena serangga mampu mengembangkan pertahanan terhadap beberapa senyawa yang berbeda pada saat yang sama dibandingkan dengan satu senyawa insektisida (Dadang et al., 2007; Kurniati et al., 2018).

Penelitian pendahuluan telah dilakukan untuk mengeksplorasi tanaman di sekitar tempat tinggal yang berpotensi sebagai bioinsectisida. Dari 14 jenis tanaman yang dinilai, terdapat dua tanaman dengan kandungan flavonoid tertinggi, yaitu pada daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) sebesar 0,3%, dan daun sirsak (*Annona muricata*) sebesar 0,47%. Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan campuran ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) dan daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai biolarvasida *Aedes aegypti*.

METODE

1. Rancangan penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial. Variabel yang diteliti adalah formula (kombinasi ekstrak daun tapak dara/DTD, dan daun sirsak/DS), dosis, dan waktu paparan. Formula terdiri dari lima level, yaitu F-1 (100%:0%), F-2 (75%:25%), F-3 (50%:50%), F-4 (25%:75%), dan F-5 (0%:100%). Dosis terdiri dari lima level, yaitu 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5%. Waktu paparan dihitung sejak larva dipaparkan kombinasi formula dan dosis yang ditentukan, dan diamati hingga 48 jam. Pencatatan kematian dilakukan pada lima waktu, yaitu 18 jam, 21 jam, 24 jam, 42 jam, dan 48 jam. Keseluruhan percobaan dilakukan rangkap dua, sehingga total percobaan sebanyak 50 kali, dan memperoleh 250 data.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Kesehatan Lingkungan Politeknik Kesehatan Tanjung Karang, selama bulan Juli hingga November 2022. Tahapan penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak tanaman, pengenceran ekstrak sesuai formula yang ditentukan, uji kandungan *flavonoid*, persiapan larva nyamuk *Ae. aegypti*, dan uji kerentanan larva (*bioassay test*). Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Tanjung Karang, melalui *Ethical Clearance* nomor: 257/KEPK-TJK/X/2022 tanggal 15 Juli 2022.

2. Ekstraksi bahan

Ekstraksi daun sirsak dan daun tapak dara menggunakan metode maserasi. Masing-masing bahan (sekitar 2 kg) dicuci dengan air bersih yang mengalir. Daun segar selanjutnya dipotong halus dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama lima hari, tanpa paparan sinar matahari langsung. Untuk mendapatkan keseragaman tingkat kekeringan, seluruh bahan dimasukkan ke dalam oven (suhu 50°C, selama 24 jam), kemudian dihancurkan menggunakan blender dan diayak.

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam masing-masing 700gram serbuk daun kering menggunakan pelarut etanol 96% di dalam labu ukur tertutup selama 3x24jam. Pemisahan filtrat dilakukan setelah 72 jam perendaman, dan disaring menggunakan kertas saring. Keseluruhan filtrat selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacuum evaporator* sehingga diperoleh larutan kental, sebagai larutan induk (konsentrasi 100%). Pengenceran menggunakan *aquadest* untuk mendapatkan konsentrasi yang ditetapkan. Penentuan kandungan *Flavonoid* dilakukan dengan metode spektrofotometri di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung.

3. Larva *Ae. aegypti*

Larva *Ae. aegypti* yang digunakan pada penelitian berasal dari penetasan telur *Ae. aegypti* yang diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Vektor Pangandaran, Jawa Barat. Telur nyamuk dipelihara di dalam nampakan plastik dan diberi penutup kain berlubang kecil (kain kasa). Setelah telur menetas dan mencapai

stadium instar-I, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi makanan ikan (*fish food*), dan dipelihara hingga mencapai instar-III.

Mengikuti WHO (2005), larva yang menjadi sampel penelitian yaitu larva *Ae. aegypti* instar-III yang berukuran 4-5 mm atau yang berumur 3-4 hari setelah telur menetas. Menurut Hidayati & Suprihatini (2020), larva instar-III memiliki ketahanan hidup yang kuat dan lebih tahan dari pengaruh faktor eksternal. Sedangkan pada fase instar-I dan instar-II, laju ketahanan hidup larva mengalami masa rentan (Ramadhani et al., 2019). Pada setiap percobaan menggunakan 20 ekor larva, sehingga total larva *Ae. aegypti* yang digunakan selama penelitian sebanyak 1.000 ekor larva.

4. Bioassay Test

Bioassay test dilakukan berdasarkan WHO (2005). Sebanyak 25 gelas uji yang berisi 100 ml air bersih disiapkan untuk percobaan. Pada setiap gelas uji dimasukkan 1 ml ekstrak tanaman sesuai dengan formula dan dosis yang telah ditentukan, dan dilakukan pengadukan hingga larut sempurna. Sebanyak 20 ekor larva *Ae. aegypti* instar-III dimasukkan ke dalam setiap gelas uji dan dilakukan pengamatan selama 48 jam.

Pencatatan kematian larva *Ae. aegypti* dilakukan setiap jam selama 48 jam percobaan, pada setiap gelas uji. Kematian larva ditentukan berdasarkan visual serta kondisi larva, yaitu tenggelam ke dasar wadah, tidak bergerak, dan tidak merespons rangsangan berupa sentuhan menggunakan lidi pada bagian *sifon* (Putri & Yushananta, 2022). Percobaan dilakukan dengan dua kali ulangan.

5. Analisis data

Analisis data dilakukan untuk mengetahui mortalitas larva *Ae. aegypti* berdasarkan variabel penelitian (formula, dosis, dan waktu), menggunakan nilai *mean*, minimum dan maksimum. Perhitungan mortalitas mengikuti formula:

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

Dilakukan analisis ragam dua arah (*Two-way Anova*) untuk mengetahui pengaruh variabel penelitian terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*,

baik secara tunggal maupun gabungan. Uji Tukey juga diterapkan untuk menentukan perbedaan yang signifikan antara level perlakuan. Semua dianalisis dilakukan pada tingkat kepercayaan 95%, menggunakan perangkat statistik Minitab 19.0.

HASIL

1. Kandungan Flavonoid

Hasil penelitian (Tabel 1) mendapatkan bahwa kandungan *flavonoid* tertinggi pada F-5 (11,85 Mg QE/g eks), dan terendah pada F-4 (7,74 Mg QE/g eks). Berdasarkan komposisi bahan, terlihat bahwa pada F-5 hanya berisi ekstrak DS (100%). Sedangkan pada F-4, komposisi DS hanya 25%. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin rendah

kandungan DS, maka semakin rendah pula kandungan *flavonoid*.

2. Mortalitas larva *Ae. aegypti*

Mortalitas larva *Ae. aegypti* dihitung berdasarkan jumlah larva yang mati dari seluruh larva yang diuji pada setiap perlakuan, dinyatakan dalam persen. Tabel 2 menunjukkan bahwa mortalitas tertinggi larva *Ae. aegypti* pada F-5 (8,2%), dan terendah pada F-1 (1,0%).

Trend mortalitas berdasarkan formula ditunjukkan pada Gambar 1.a. Terlihat bahwa semakin tinggi kode formula, maka semakin tinggi mortalitas larva. Hasil ini berkaitan dengan kandungan *flavonoid* pada setiap formula, seperti yang telah dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan *flavonoid* pada esktrak DTD dan DS

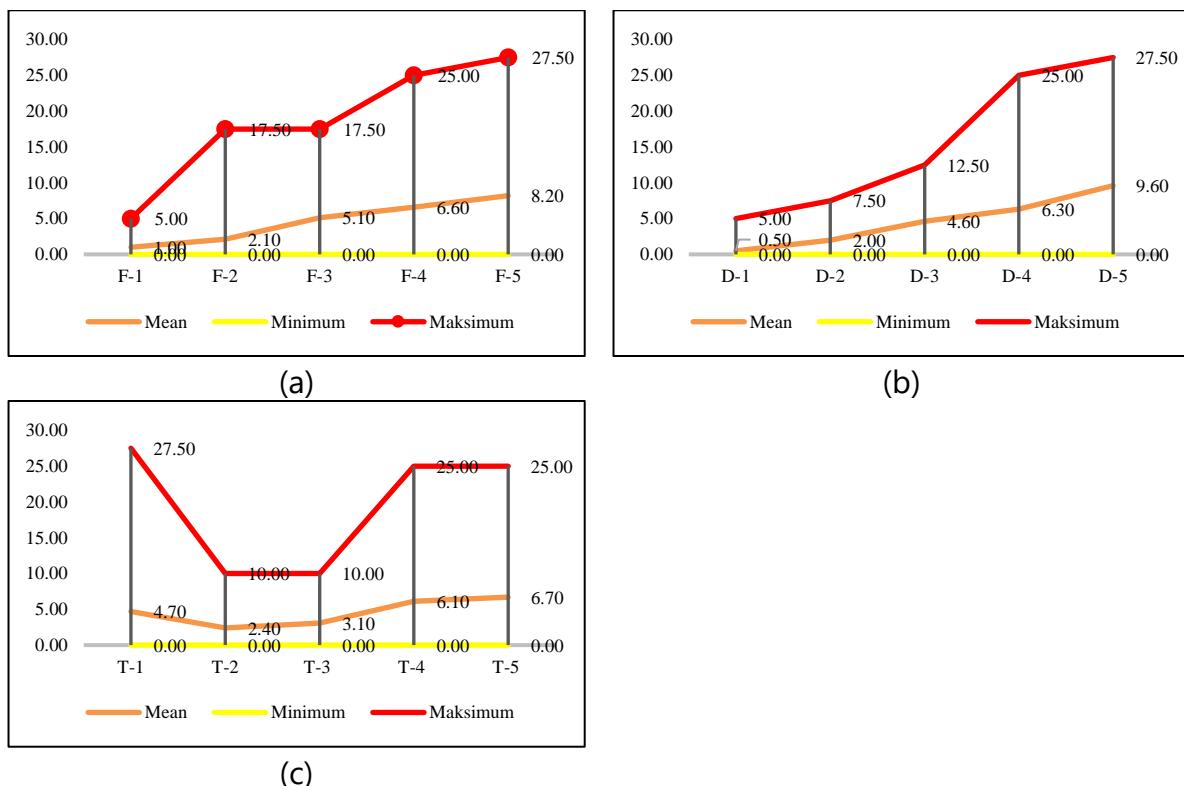
No	Formula Ekstrak	Kandungan Flavonoid (Mg QE/g eks)
1.	F-1 (100% DTD)	8,65
2.	F-2 (25% DTD : 75% DS)	10,62
3.	F-3 (50% DTD : 50% DS)	9,33
4.	F-4 (75% DTD : 25% DS)	7,74
5.	F-5 (100% DS)	11,85

F= formula, DTD= daun tapak dara, DS= daun sirsak

Tabel 2. Mortalitas larva *Ae. aegypti* berdasarkan formula, dosis, dan waktu

Variabel	Mortalitas (%)				
Formula	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
Mean	1,00	2,10	5,10	6,60	8,20
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maksimum	5,00	17,50	17,50	25,00	27,50
Dosis	D-1 (0,5%)	D-2 (1,0%)	D-3 (1,5%)	D-4 (2,0%)	D-5 (2,5%)
Mean	0,50	2,00	4,60	6,30	9,60
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maksimum	5,00	7,5	12,50	25,00	27,50
Waktu	T-1 (18 jam)	T-2 (21 jam)	T-3 (24 jam)	T-4 (42 jam)	T-5 (48 jam)
Mean	4,70	2,40	3,10	6,10	6,70
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maksimum	27,50	10,00	10,00	25,00	25,00

F= formula, D= dosis, T= waktu



Gambar 1. Mortalitas larva *Ae. aegypti* berdasarkan formula (a), dosis (b), waktu (c)

Berdasarkan dosis (Tabel 2), terlihat bahwa mortalitas tertinggi pada dosis 2,5% (9,6%), dan terendah pada dosis 0,5% (0,5%). Gambar 1.b menunjukkan trend mortalitas larva semakin meningkat mengikuti dosis ekstrak. Semakin tinggi dosis, maka semakin tinggi pula tingkat mortalitas larva.

Mortalitas larva *Ae. aegypti* berdasarkan waktu (Tabel 2) tertinggi setelah paparan selama 48 jam (6,7%), dan terendah setelah paparan selama 21 jam (2,4%). Secara umum, trend mortalitas semakin meningkat mengikuti lama waktu paparan (Gambar 1.c).

3. Pengaruh variabel terhadap mortalitas larva

Pengaruh variabel (formula, dosis, dan waktu) diuji dengan *Two-way Anova* pada kepercayaan 95% (Tabel 3). Secara keseluruhan, hasil analisis menunjukkan nilai *R-square (adjusted)* sebesar 68,53%, menunjukkan bahwa model mampu menjelaskan 68,53% keragaman respon (mortalitas). Pada Tabel 3 terlihat bahwa mortalitas larva *Ae. aegypti* secara signifikan berbeda berdasarkan formula, dosis, dan waktu (*p-value*<0,01). Sehingga, secara tunggal ketiga

variabel menunjukkan pengaruh terhadap mortalitas larva.

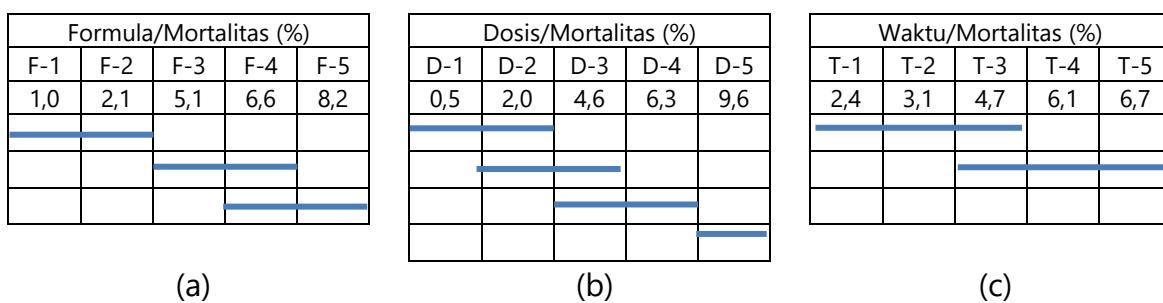
Uji Tukey diterapkan untuk mengetahui perbedaan signifikan antar variasi pada setiap variabel. Pada variabel formula (Gambar 2.a), hasil analisis tidak menunjukkan perbedaan signifikan antara (F-1 dan F-2), (F-3 dan F-4), serta (F-4 dan F-5). Berdasarkan rerata mortalitas, nilai tertinggi pada F-5 (8,2%). Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan formula kelima (100% ekstrak DS) memberikan pengaruh tertinggi terhadap mortalitas jentik *Ae. aegypti*.

Pada dosis (Gambar 2.b), tidak terlihat perbedaan signifikan antara (D-1 dan D-2), (D-2 dan D-3), (D-3 dan D-4), serta (D-5 dan varian lainnya). Berdasarkan rerata mortalitas, nilai tertinggi pada D-5 (9,6%). Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan dosis kelima (2,5% ekstrak) memberikan pengaruh tertinggi terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*.

Pada variabel waktu (Gambar 2.c), tidak terlihat perbedaan signifikan antara (T-1, T-2 dan T-3), dan (T-3, T-4, dan T-5). Rerata mortalitas tertinggi ditunjukkan pada T-5 (6,7%). Sehingga pengaruh waktu yang memberikan efek terbesar terhadap mortalitas jentik *Ae. aegypti* setelah paparan 48 jam.

Tabel 3. Pengaruh variabel terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formula	4	910,5	227,62	19,53	0,000
Dosis	4	1286,5	321,62	27,59	0,000
Waktu	4	344,0	86,00	7,38	0,000
Formula*Dosis	16	358,0	22,38	1,92	0,034
Formula*Waktu	16	323,0	20,19	1,73	0,063
Dosis*Waktu	16	624,5	39,03	3,35	0,000
Error	64	746,0	11,66		
Total	124	4592,5			
R-square (adjusted)		68,53%			



Gambar 2. Hasil uji Tukey variabel formula (a), dosis (b), dan waktu (c)

Pengaruh gabungan antar variabel juga dapat dilihat dari Tabel 3. Perbedaan mortalitas larva *Ae. aegypti* secara signifikan terlihat berbeda pada kombinasi antara dosis dan waktu (*p*-value<0,01). Menjelaskan adanya pengaruh kombinasi kedua variabel terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*. Hasil uji Tukey (Gambar 3) mendapatkan bahwa kombinasi F-5 dan D-5 berbeda dibandingkan kombinasi lainnya. Selain itu, kombinasi F-5 dan D-5 juga memberikan efek terbesar terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* (15,5%).

Perbedaan signifikan mortalitas larva *Ae. aegypti* juga terlihat pada kombinasi antara formula dan dosis (*p*-value=0,034). Menjelaskan adanya pengaruh kombinasi kedua variabel terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*. Hasil uji Tukey (Gambar 3) mendapatkan bahwa kombinasi T-4 dan D-5 berbeda dibandingkan kombinasi lainnya, serta memberikan efek terbesar terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* (16,0%).

Berdasarkan hasil analisis keseluruhan, maka dapat disimpulkan bahwa penggunaan formula 100% ekstrak DS, dengan dosis 2,5%, dan paparan selama 42 jam dapat memberikan efek terbesar terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* (Gambar 4).

PEMBAHASAN

Penetapan nilai *flavonoid* pada ekstrak DTD dan DS menggunakan metode *Spektrofotometri*. Prinsip dari metode ini adalah pengukuran berdasarkan pembentukan warna akibat terbentuknya kompleks antara AlCl₃ dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga dari *flavon* dan *flavonol* (Yulistian et al., 2015). Hasil penelitian mendapatkan kandungan *flavonoid* total pada ekstrak DTD sebesar 8,65 mg QE/g, dan 11,85 mg QE/g pada ekstrak DS (Tabel 1).

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengungkapkan bahwa *flavonoid* memiliki aktivitas sebagai insectisida terhadap beberapa serangga (Ahyanti et al., 2022; Jannah & Yuliani, 2021; Saputri et al., 2021; Yushananta & Mei, 2021). Senyawa *flavonoid* memiliki sifat yang selektif terhadap hama, tidak berbahaya bagi manusia, dapat terurai di lingkungan, tidak meninggalkan residu beracun terhadap inang yang sudah resisten terhadap insektisida, dan kompatibel dengan teknik pengendalian hama yang lainnya (Ahyanti et al., 2022; Jannah & Yuliani, 2021; Saputri et al., 2021; Yushananta & Mei, 2021).

Mekanisme kerja *flavonoid* adalah sebagai racun pernafasan dan metabolisme, sehingga dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat. Flavonoid dapat menghambat saluran pencernaan serangga, dan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Akibatnya, larva

gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga menyebabkan kematian (Anisah & Sukesni, 2018; Kurniawan & Ropiqa, 2021; Pritacindy et al., 2017; Yushananta & Ahyanti, 2021).

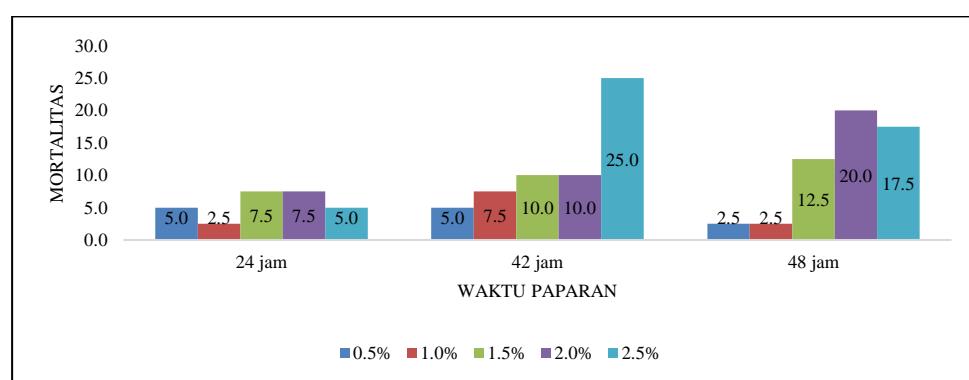
Formula*Dosis	Mean	Grouping
5 - 5	15,5	
4 - 5	13,0	
5 - 4	10,5	
3 - 5	10,0	
4 - 4	9,5	
3 - 4	8,0	
5 - 3	8,0	
2 - 5	7,5	
3 - 3	7,0	
4 - 3	6,5	
5 - 2	4,5	
4 - 2	4,0	
5 - 1	2,5	
1 - 5	2,0	
2 - 4	2,0	
1 - 4	1,5	
1 - 3	1,0	
1 - 2	0,5	
2 - 3	0,5	
2 - 2	0,5	
3 - 2	0,5	
2 - 1	0,0	
4 - 1	0,0	
1 - 1	0,0	
3 - 1	-0,0	

(a)

Waktu*Dosis	Mean	Grouping
4 - 5	16,0	
5 - 4	12,5	
5 - 5	12,5	
1 - 5	12,0	
5 - 3	7,0	
4 - 4	6,0	
1 - 3	5,0	
3 - 4	5,0	
3 - 3	5,0	
2 - 5	4,5	
2 - 4	4,0	
4 - 3	4,0	
1 - 4	4,0	
4 - 2	3,5	
3 - 5	3,0	
1 - 2	2,5	
2 - 3	2,0	
2 - 2	1,5	
3 - 2	1,5	
4 - 1	1,0	
3 - 1	1,0	
5 - 2	1,0	
5 - 1	0,5	
1 - 1	0,0	
2 - 1	-0,0	

(b)

Gambar 3. Hasil uji Tukey pada kombinasi formula dan dosis (a), waktu dan dosis (b)

Gambar 4. Mortalitas larva *Ae. aegypti* pada F-5 berdasarkan dosis dan waktu

Pada penelitian ini dilakukan pencampuran dua ekstrak tanaman (ekstrak DTD dan ekstrak DS), dengan lima variasi perbandingan (Tabel 1). Hasil analisis kandungan *flavonoid* mendapatkan bahwa kandungan terendah pada F-1 (100% DTD), dan tertinggi pada F-5 (100% DS). Berdasarkan variasi komposisi campuran terlihat bahwa semakin tinggi kandungan ekstrak DS, maka semakin tinggi pula kandungan *flavonoid*. Hasil ini sekaligus menunjukkan bahwa *flavonoid* pada kedua bahan dapat bergabung dengan baik dan bersinergi. Di sisi lain, ekstrak DS dapat digunakan sebagai strategi untuk meningkatkan kandungan *flavonoid* pada bahan lain.

Tabel 2 menunjukkan mortalitas larva *Ae. aegypti* (dalam satuan %) berdasarkan formula, dosis, dan waktu. Pada variasi formula, rerata mortalitas larva *Ae. aegypti* tertinggi pada F-5 (100% DS), sebesar 8,20% (0,00 – 27,50%); terendah adalah F-1 (100% DTD) sebesar 1,0% (0,00-5,00%). Hasil ini menjelaskan bahwa semakin tinggi kandungan *flavonoid*, maka semakin tinggi pula tingkat kematian larva. Trend mortalitas dijelaskan pada Gambar 1. Hasil penelitian ini mengkonfirmasi hasil-hasil penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa semakin tinggi kandungan *flavonoid*, maka meningkat pula mortalitas larva (Anisah & Sukes, 2018; Kurniawan & Ropiqa, 2021; Pritacindy et al., 2017; Yushananta & Ahyanti, 2021). Kandungan *flavonoid* yang tinggi akan merusak sistem pernafasan dan pencernaan larva, sehingga menimbulkan kematian dengan cepat.

Berdasarkan dosis dan waktu paparan, rerata mortalitas tertinggi pada D-5 (dosis 2,5%), yaitu sebesar 9,60% (0,00-27,5%). Sedangkan lama paparan yang memberikan efek mortalitas tertinggi pada T-4 (42 jam) dan T-5 (48 jam), masing-masing sebesar 6,10% (0,00-25,00%) dan 6,70% (0,00-25,00%). Kedua variabel menunjukkan hubungan positif dengan mortalitas larva. Peningkatan jumlah dosis dan waktu paparan, akan diikuti oleh peningkatan mortalitas larva *Ae. aegypti*. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa dosis dan waktu paparan memberikan efek positif terhadap mortalitas larva (Ahyanti et al., 2022; Al-Husseini et al., 2020; Anisah & Sukes, 2018; Kurniawan &

Ropiqa, 2021; Pritacindy et al., 2017; Yushananta & Ahyanti, 2021).

Keberadaan *flavonoid* dalam tanaman menambah kemampuan tanaman dalam mengendalikan larva (Ahyanti et al., 2022). Dari hasil ini dapat dijelaskan bahwa Daun Tapak Dara dan Daun Sirsak memiliki kemampuan membunuh larva dan berpotensi sebagai bioinsektisida dalam mengendalikan larva nyamuk, khususnya *Aedes aegypti*. Meski secara statistik formula, konsentrasi dan waktu pemaparan berpengaruh terhadap mortalitas larva sebesar 83,76%, tetapi sebaiknya penggunaan ekstrak dilakukan secara terpisah agar tidak mengurangi kandungan *flavonoid* yang bertindak sebagai racun terhadap larva.

Dosis berkaitan dengan jumlah *flavonoid* yang dipaparkan terhadap larva. Semakin tinggi dosis yang digunakan, maka semakin besar kandungan *flavonoid* yang bersifat rancun terhadap serangga. Demikian pula waktu, semakin lama larva terpapar oleh *flavonoid*, maka akan semakin tinggi mortalitasnya akibat keracunan. Menurut Al-Husseini et al. (2020), dosis dan waktu paparan yang lebih rendah mengungkapkan efek toksik yang lebih kecil terhadap larva.

Flavonoid bekerja sebagai antifeedant yaitu menghambat reseptor perasa pada area mulut larva, sehingga larva kehilangan stimulus rasa yang mengakibatkan tidak mampu mengenali makanan yang ada di sekitarnya. Akibatnya, larva kehilangan energi untuk perkembangan dan terhambat pertumbuhannya (Kurniawan & Ropiqa, 2021). Menurut Pritacindy et al. (2017), kematian larva juga dipengaruhi oleh kebutuhan energi yang tinggi pada proses biotransformasi. Proses biotransformasi merupakan reaksi alamiah tubuh akibat masuknya senyawa racun.

Selain menghambat reseptor, *flavonoid* sebagai racun pernafasan yang digunakan untuk larvasida terhadap nyamuk *Ae. aegypti* (Arivoli et al., 2016). Senyawa turunan dari *flavonoid* yang diduga memiliki sifat sebagai larvasida adalah *rotenon* (Aulung et al., 2010). *Rotenon* merupakan insektisida alami yang bekerja sebagai racun pernafasan. Cara kerja rotenon menghambat kerja enzim pernafasan, antara koenzim yang terlibat dalam oksidasi dan reduksi dalam proses metabolisme (NAD+) dan koenzim pernafasan yang bertanggung jawab membawa elektron

pada rantai transportasi elektron (koenzim Q) yang mengakibatkan kegagalan fungsi pernapasan.

Keberadaan senyawa *flavonoid* dalam lingkungan larva menyebabkan gugus hidroksil (-OH) pada *flavonoid* berikatan dengan protein integral membran sel larva melalui ikatan hidrogen. Kondisi ini menyebabkan transport aktif $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ menjadi terganggu. Hiperosmolaritas intraseluler terjadi disebabkan oleh ketidaksimbangan cairan intraseluler, selanjutnya membran sel membengkak kemudian pecah (Suryanto et al., 2018). Lamanya waktu pemaparan larva dengan senyawa *flavonoid* semakin mengganggu transport $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ dan mendorong pecahnya membran sel dalam tubuh larva. Membran sel yang pecah ini diduga sebagai penyebab kematian larva.

Hasil analisis statistik (Tabel 3) menunjukkan masing-masing dari ketiga variabel memberikan efek terhadap mortalitas larva ($p\text{-value} < 0,01$). Sedangkan kombinasi antar variabel yang menunjukkan pengaruh adalah formula dan dosis ($p\text{-value} = 0,034$), serta dosis dan waktu ($p\text{-value} < 0,01$). Hasil menjelaskan bahwa mortalitas larva dipengaruhi oleh kombinasi dari ketiga variabel. Mortalitas larva *Ae. aegypti* tertinggi pada penggunaan formula 100% ekstrak DS, dengan dosis 2,5%, dan paparan selama 42 jam (Gambar 4).

SIMPULAN

Penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak DS dapat dikembangkan sebagai biolarvasida *Ae. aegypti*, dengan efek maksimum pada dengan dosis 2,5%, dan paparan selama 42 jam. Di sisi lain, penambahan ekstrak DS mampu meningkatkan kinerja ekstrak DTD (maksimum 500%) terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahyanti, M., Yushananta, P., & Usman, S. (2022). Efektifitas Beberapa Tanaman dalam Mengendalikan Lalat Rumah (*Musca domestica*). *Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 15(4), 398–402. <https://doi.org/10.33860/jik.v15i4.757>
- Al-Husseini, M. T., Al-Mousawi, H. R., Kadhim, N. J., Al-Redaa Madhloom, A. A., Aziz, D. Z., & Kadhim Muha, A. J. (2020). Biological activity of Pomegranate peels *Punica granatum* Silver nanoparticles AgNPs extract against Fourth

- larvae of *Culex quinquefasciatus* mosquito (Diptera: Culicidae). *Journal of Physics: Conference Series*, 1660(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1660/1/012013>
- Anisah, A., & Sukesi, T. W. (2018). Effectiveness of Sirih Leaf Extract (*Piper betle* L.) as A House Fly Larvae (*Musca domestica*) Larvicidal. *Journal of Disease Vektor*, 12(1), 39–46. <https://doi.org/10.22435/vektor.v12i1.283>
- Arivoli, S., Tennyson, S., Raveen, R., Jayakumar, M., Senthilkumar, B., Govindarajan, M., Babujanarthanam, R., & Vijayanand, S. (2016). Larvicidal activity of fractions of *Sphaeranthus indicus* Linnaeus (Asteraceae) ethyl acetate whole plant extract against *Aedes aegypti* Linnaeus 1762, *Anopheles stephensi* Liston 1901 and *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*, 3(2), 18–30. <http://www.dipterajournal.com/vol3issue2/pdf/3-2-2.1.pdf>
- Aulung, A., Christiani, & Ciptaningsih. (2010). Daya Larvisida Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. *Majalah Kedokteran UKI*, 27(1), 7–14. <https://doi.org/10.33541/mkvol34iss2pp60>
- Benelli, G., & Beier, J. C. (2017). Current vector control challenges in the fight against malaria. *Acta Tropica*, 174, 91–96. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.06.028>
- Dadang, D., Isnaeni, N., & Ohsawa, K. (2007). Ketahanan dan Pengaruh Fitotoksik Campuran Ekstrak *Piper retrofractum* Dan *Annona squamosa* Pada Pengujian Semi Lapangan. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 7(2), 91–99. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.2791-99>
- Dompas, B. E., Sumampouw, O. J., & Umboh, J. M. L. (2020). Apakah Faktor Lingkungan Fisik Rumah Berhubungan dengan Kejadian Demam Berdarah Dengue. *Journal of Public Health and Community Medicine*, 1(2), 11–15. <https://doi.org/10.35801/ijphcm.1.2.2020.28662>
- Gubler, D. J. (2012). The economic burden of dengue. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0157>
- Halasa, Y. A., Shepard, D. S., & Zeng, W. (2012). Economic cost of dengue in Puerto Rico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.

- <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0784>
- Hidayati, L., & Suprihatini, S. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) Terhadap Kematian Larva *Culex* sp. *ASPIRATOR - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 12(1), 45–52.
<https://doi.org/10.22435/asp.v12i1.2171>
- Jannah, N. A. M., & Yuliani, Y. (2021). Keefektifan Ekstrak Daun *Pluchea indica* dan *Chromolaena odorata* sebagai Bioinsektisida Terhadap Mortalitas Larva *Plutella xylostella*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(1), 33–39.
<https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n1.p33-39>
- Juhanudin, N., & Leksono, A. S. (2013). Distribusi Spasial Nyamuk Diurnal Secara Ekologi di Kabupaten Lamongan. *Jurnal Biotropika*, 1(3), 124–128.
- Kemenkes RI. (2021). Profile Kesehatan Indonesia 2020. In *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kurniati, N. F., Suwandi, D. W., & Yunianti, S. (2018). Aktivitas Mukolitik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(1). <https://doi.org/10.7454/psr.v5i1.3854>
- Kurniawan, H., & Ropiqa, M. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 52–62.
<https://doi.org/10.37311/jsscr.v3i2.11398>
- Lloyd, L. S. (2003). *Best practices for dengue prevention and control in the Americas*. Washington DC Camp Dresser and McKee International Environmental Health
- Mufarida, B. (2020). *Kemenkes Catat 84.734 Kasus DBD, Sebaran Tertinggi Ada di Pulau Jawa*. Okenews.
- Naish, S., Dale, P., Mackenzie, J. S., McBride, J., Mengersen, K., & Tong, S. (2014). Climate change and dengue: a critical and systematic review of quantitative modelling approaches. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 167.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-167>
- Pratama, S. D., & Yushananta, P. (2021). Efektivitas Ekstrak Kulit Batang Maja (*Aegle marmelos* L) Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Anopheles* sp. *Ruwa Jurai: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 15(2), 67.
<https://doi.org/10.26630/rj.v15i2.2813>
- Pritacindy, A. P., Supriyadi, S., & Kurniawan, A. (2017). Uji efektifitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Insectisida Terhadap Kutu Rambut(*Pediculus capitis*). *Preventia: The Indonesian Journal of Public Health*, 2(1), 1.
<https://doi.org/10.17977/um044v2i1p1-9>
- Putri, I. N. A., & Yushananta, P. (2022). Efektivitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Culex* Sp. *Ruwa Jurai: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 15(3), 109.
<https://doi.org/10.26630/rj.v15i3.3067>
- Ramadhani, T., Yuliani, V., Hadi, U. K., Soviana, S., & Irawati, Z. (2019). Tabel Hidup Nyamuk Vektor Filariasis Limfatik *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) di Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 18(2), 73.
<https://doi.org/10.14710/jkli.18.2.73-80>
- Saputri, A. E., Hariyanti, D. B., Ramadhani, I. A., & Harijani, W. S. (2021). Potensi Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Sebagai Biopestisida Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.). *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 18(2), 209–216.
<https://doi.org/10.32528/agritrop.v18i2.3740>
- Senthil-Nathan, S. (2020). A Review of Resistance Mechanisms of Synthetic Insecticides and Botanicals, Phytochemicals, and Essential Oils as Alternative Larvicidal Agents Against Mosquitoes. *Frontiers in Physiology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01591>
- Suanda, I. W. (2014). Pelestarian Keanekaragaman Hayati Tumbuhan Sebagai Bahan Pestisida Ramah Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Prodi Biologi F. MIPA UNHI*, 220–223.
- Suryanto, Santoso, L. M., & Suratmi. (2018). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai Larvasida nabati Larva Nyamuk *Culex quinquefasciatus* dan Sumbangannya pada Pembelajaran Biologi SMA. *Jurnal Pembelajaran Biologi*, 5(2), 41–53.
<https://doi.org/10.36706/fpbio.v5i2.7060>
- Tennyson, S., Ravindran, K. J., & Arivoli, S. (2012). Screening of twenty five plant extracts for larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S1130–S1134. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60372-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60372-4)
- Wahyono, T. Y. M., Haryanto, B., Mulyono, S., & Adiwibowo, A. (2010, August). Faktor-faktor Yang Berhubungan dengan kejadian Demam Berdarah dan Upaya penanggulangannya di

- kecamatan Cimanggis, Depok, Jawa Barat. *Buletin DBD. Pusat Data Dan Informasi, Kementerian Kesehatan RI*, 2.
- WHO. (2005). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. In *World Health Organization*. http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHOPESS_GCDPP_2005.13.pdf?ua=1
- World Health Organization. (2011). *Comprehensive guideline for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever*.
- Yulistian, D. P., Utomo, E. P., Ulfa, S. M., & Yusnawan, E. (2015). Studi pengaruh jenis pelarut terhadap hasil isolasi dan kadar senyawa fenolik dalam biji kacang tunggak (. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), 819–825.
- Yuniar, N., Majid, R., Ode, L., Zety, M., & Wildan, E. (2017). Larvacidal effect of papaya leaf extracts (*Carica papaya* L.) toward the larvae of *Anopheles aconitus* donits mosquitoes as an effort to prevent malaria disease in Rural Areas of Southern Konawe. *Proceeding International Seminar on Global Health (ISGH) 2017*, 1(1), 333–343.
- Yushananta, P. (2021). Dengue Hemorrhagic Fever and Its Correlation with The Weather Factor In Bandar Lampung City: Study From 2009-2018. *Jurnal Aisyah: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 6(1), 117–126. <https://doi.org/10.30604/jika.v6i1.452>
- Yushananta, P., & Ahyanti, M. (2014). Pengaruh Faktor Iklim Dan Kepadatan Jentik Ae.Aegypti Terhadap Kejadian DDB. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, V(1), 1–10. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.26630/jk.v5i1.58>
- Yushananta, P., & Ahyanti, M. (2021). The Effectiveness of Betle Leaf (*Piper betle* L.) Extract as a Bio-pesticide for Controlled of Houseflies (*Musca domestica* L.). *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(E), 895–900. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.6886>
- Yushananta, P., & Mei. (2021). The Effectiveness of Betle Leaf (*Piper betle* L.) Extract as a Bio-pesticide for Controlled of Houseflies (*Musca domestica* L.). *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(E), 895–900. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.6886>
- Yushananta, P., Setiawan, A., & Tugiyono, T. (2020). Variasi Iklim dan Dinamika Kasus DBD di Indonesia: Systematic Review. *Jurnal Kesehatan*, 11(2), 294. <https://doi.org/10.26630/jk.v11i2.1696>