

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi Virus Dengue (IVD) merupakan penyakit yang telah banyak menjangkit manusia. Penyakit ini disebabkan oleh virus Dengue, suatu virus dari genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. Virus ini memiliki 4 jenis serotipe yaitu Den-1, Den-2, Den-3, dan Den-4 (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI), 2010). Penularan virus ini ditransmisikan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (CDC, 2019).

Pada tahun 2013, jumlah kejadian IVD mencapai 400.000 kasus. Pada tahun tersebut, 5 negara anggota di regional Asia Tenggara termasuk Indonesia, menjadi 30 negara paling endemik IVD di dunia (Singh, 2014). Indonesia menduduki posisi ke-2 dari 30 negara paling endemik di seluruh dunia antara tahun 2004 hingga 2010 (Indrayani dan Wahyudi, 2018). Pada tahun 2017, Indrayani dan Wahyudi (2018) menuliskan angka kasus demam berdarah di Indonesia mayoritas terjadi di Pulau Jawa. Pada tahun tersebut dilaporkan Provinsi Jawa Timur melaporkan 7.838 kasus dari 68.407 kasus di seluruh Indonesia dengan 105 pasien diantaranya meninggal dunia. Besarnya angka kesakitan atau *Incidence Rate* (IR) di Indonesia pada tahun 2017 adalah 26,12 per 100.000 penduduk. Pada tahun tersebut, Provinsi Jawa Timur memiliki IR 19,95 dengan *Case Fatality Rate* (CFR) sebesar 1,34%. CFR tersebut tergolong tinggi karena memiliki nilai lebih dari 1%. Dalam pemetaan wilayah Provinsi Jawa Timur, Badan Pusat Statistik (2017) melaporkan Surabaya sebagai kota yang memiliki kasus IVD terbanyak kedua setelah Kabupaten Sampang dengan jumlah 451 kasus.

Upaya penganggulangan kasus IVD dapat dilakukan dengan mengatasi masalah vektor, melalui penggunaan larvasida (WHO, 2009). Larvasida bekerja sebagai agen pembunuh jentik atau larva. Penilaian keberhasilan dalam membasmi larva nyamuk, khususnya di Indonesia, ditentukan berdasarkan Angka Bebas Jentik (ABJ) dengan target sebesar $\geq 95\%$ (Indrayani dan Wahyudi, 2018). Penggunaan larvasida yang sama dapat menimbulkan sifat resisten pada larva, sehingga memerlukan inovasi larvasida baru (WHO, 2009). Larvasida yang umum digunakan adalah larvasida sintesis. Namun demikian, penggunaan larvasida sintesis berpotensi mencemari lingkungan, sehingga diperlukan alternatif larvasida alami.

Daun Johar (*Cassia siamea*) merupakan tanaman yang secara umum tumbuh di iklim tropis, seperti Indonesia. Ekstrak daun ini telah diteliti sebagai larvasida untuk *Culex quinquefasciatus* dan *Aedes aegypti*. Ekstrak non-polar mengandung bahan aktif yang lebih efisien dalam membunuh larva (Famuyiwa *et al*, 2020). Bahan aktif tersebut dapat diisolasi menggunakan N-heksana (Ratu dan Bunjamin, 2019). Penelitian efektifitas zat larvasida dapat dilakukan dengan menghitung jumlah larva *Ae. aegypti* yang mati dalam konsentrasi zat yang diteliti (Warikoo *et al*, 2012). Observasi morfologi akan dapat memperinci kemampuan dari zat yang diteliti. (Jiraungkoorskul and Jiraungkoorskul, 2015)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah yang dapat disampaikan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbedaan mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*?
2. Bagaimana perbedaan perubahan morfologi larva *A. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Identifikasi mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air daun *C. siamea*.
2. Identifikasi mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak N-heksana daun *C. siamea*.
3. Identifikasi perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air daun *C. siamea*.
4. Identifikasi perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak N-heksana daun *C. siamea*.
5. Analisa perbedaan mortalitas larva *Ae. aegypti* antara pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*
6. Analisa perbedaan perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* antara pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan maupun penemuan larvasida *Aedes aegypti* dengan penggunaan ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *Cassia siamea*
2. Penelitian ini dapat memberikan informasi terkait tingkat mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*
3. Penelitian ini dapat memberikan informasi terkait perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*

1.4.2 Manfaat Praktis

Adapun manfaat praktis dari penelitian ini berupa penemuan dan implementasi larvasida baru yang berpotensi mampu menyebabkan efek letal pada larva *Ae. aegypti*. Pengaplikasian penelitian larvasida baru ini juga berpotensi menghasilkan larvasida yang lebih ramah lingkungan karena menggunakan bahan alami.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyamuk *Aedes aegypti*

2.1.1 Klasifikasi

Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Uniramia
Kelas	: Insekta
Ordo	: Diptera
Subordo	: Nematosera
Familia	: Culicidae
Subfamili	: Culicinae
Tribus	: Culicini
Genus	: Aedes
Subgenus	: Stegomyia
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i>

(Djakaria, 2004; Nugroho dkk, 2019)

2.1.2 Distribusi nyamuk *Aedes aegypti* di Indonesia

Persebaran nyamuk *Ae. aegypti* di Indonesia mengalami perubahan dari tahun ke tahun. Namun demikian, Nugroho dkk (2019) menyampaikan bahwa persebaran nyamuk *Ae. aegypti* tidak hanya di daerah dengan kasus IVD yang banyak seperti Pulau Jawa, melainkan juga di Pulau Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Papua, Bali, dan Nusa Tenggara.

Distribusi nyamuk *Ae. Aegypti* umum dijumpai di daerah urban. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor terkait kondisi lingkungan. Hendri, Santya, dan Prasetyowati (2015) menunjukkan adanya korelasi antara suhu dan kelembaban udara terhadap kepadatan vektor IVD. Penentuan suhu dan kelembaban udara dikelompokkan pada rentang ketinggian lokasi yang diteliti. Dari penelitian yang dilaksanakan di Kabupaten Ciamis, Jawa Barat tersebut, didapati jumlah larva nyamuk *Ae. aegypti* yang lebih banyak di daerah dengan ketinggian yang relatif lebih rendah.

2.1.3 Vektor Penyakit

Nyamuk *Ae. aegypti* umumnya dikenal sebagai vektor virus Dengue. Virus ini merupakan penyebab infeksi virus dengue yang lazim menjangkit di daerah tropis (CDC, 2019). Virus Dengue ditularkan melalui gigitan nyamuk dewasa.

Virus Zika juga dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk *Ae. aegypti* (CDC, 2019). Wilayah ditemukannya nyamuk ini dapat menunjukkan perbedaan suceptibilitas terhadap virus Zika. Chouin-Carneiro *et al* (2016) mendapati spesies *Ae. aegypti* di wilayah Amerika Serikat memiliki daya efektivitas yang lebih rendah daripada spesies yang sama di wilayah Brazil dalam menularkan virus Zika.

Ae. aegypti turut menjadi vektor penyebab chikungunya. Penyakit ini menginfeksi melalui gigitan nyamuk seperti *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang membawa virus Chikungunya (CDC, 2019; Lounibos and Kramer, 2016). Walaupun virus yang juga menginfeksi nyamuk *Ae. aegypti*, namun hal tersebut tidak menimbulkan sifat patogen pada tubuhnya. (Lounibos and Kramer, 2016)

2.1.4 Resistensi Insektisida

Penanganan *Ae. aegypti* dilakukan melalui upaya pemutusan siklus kehidupan vektor. Salah satu fase yang diberantas adalah fase dewasa. Pada fase ini, *Ae. aegypti* sudah mampu menularkan virus, seperti virus Zika, Dengue, maupun Chikungunya

(CDC, 2019). Selain itu, fase ini juga merupakan fase yang dapat menjadi masalah baru dalam penyebaran penyakit terkait karena kemampuannya untuk bereproduksi. Penanganan pada fase ini umum menggunakan insektisida melalui *thermal fogging*/pengasapan atau *Ultra Low Volume* (ULV). (Sutarto dan Syani, 2018)

Jenis insektisida yang dapat digunakan, dikelompokkan menjadi organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid (Sutarto dan Syani, 2018). Pengelompokan ini didasarkan pada senyawa aktif yang digunakan. Kelompok organoklorin memanfaatkan senyawa aktif berupa *chlorinated hydrocarbon*, seperti dikloro-difenil-trikloroetana (DDT). Kelompok organofosfat menggunakan asam tiofosfat atau ester asam fosfat. Kelompok ini merupakan insektisida dengan efek toksik yang paling tinggi terhadap vertebrata. Contoh kelompok organofosfat adalah malation dan temephos. Penggunaan temephos dikenal pula sebagai larvasida (WHO, 2009). Kelompok karbamat bekerja dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase pada nyamuk dan spesies serangga lainnya dengan menggunakan senyawa ester asam N-metilkarbamat seperti bendiokarb.

Penggunaan berulang suatu jenis insektisida memungkinkan terjadinya resistensi pada tubuh serangga. Terjadinya resistensi dapat dibedakan menjadi 2 tipe, yakni resistensi bawaan dan resistensi yang didapat. Resistensi bawaan terjadi karena inang menurunkan sifat resistensi kepada anaknya. Sedangkan resistensi yang didapat terjadi karena proses adaptasi serangga, sehingga serangga tersebut tidak mati saat terpapar insektisida. (Sutarto dan Syani, 2018)

Proses terjadinya resistensi serangga, seperti *Ae. aegypti*, dapat terjadi melalui 3 mekanisme. Resistensi dapat terjadi karena adanya aktivitas enzim-enzim tertentu yang meningkatkan proses detoksifikasi, sehingga insektisida yang digunakan tidak lagi toksik pada serangga tersebut. Resistensi juga dapat terjadi karena penurunan

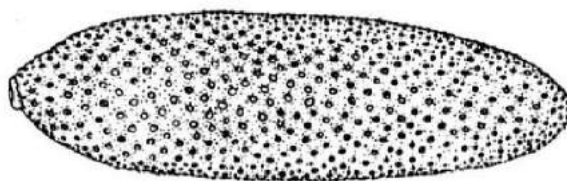
kepekaan tempat sasaran (reseptor) insektisida pada tubuh vektor. Selain itu, penurunan laju penetrasi insektisida melalui kulit vektor juga sering kali dijumpai sebagai penyebab utama resistensi. (Ramayanti dan Febriani, 2016)

Kasus resistensi di Indonesia sudah banyak dijumpai di Indonesia. Mantolu dkk (2016) melaporkan kasus resistensi insektisida jenis permetrin terjadi pada *Ae. aegypti* di wilayah Bandung, Makassar, Palu, dan Bogor. Resistensi ini meningkat sebanyak 5-18 kali lebih tinggi pada F5 dibanding parentalnya. Penggunaan insektisida malathion juga tidak lagi efektif dalam membunuh *Ae. aegypti* di wilayah endemis Provinsi Jawa Tengah. Resistensi ini juga berhubungan dengan kesalahan penggunaan insektisida yang umum dijumpai di masyarakat, sehingga memerlukan dosis yang lebih tinggi dan alternatif insektisida lain yang lebih efektif. (Sutarto dan Syani, 2018)

2.1.5 Morfologi dan Histologi

Morfologi dan histologi nyamuk *Ae. aegypti* berubah seiring siklus hidupnya. Morfologi dan histologi ini dilihat dari fase telur, larva, pupa, dan nyamuk dewasa. Perbedaan kedua aspek ini menjadi dasar klasifikasi setiap spesies nyamuk. (Muller and Durden, 2019)

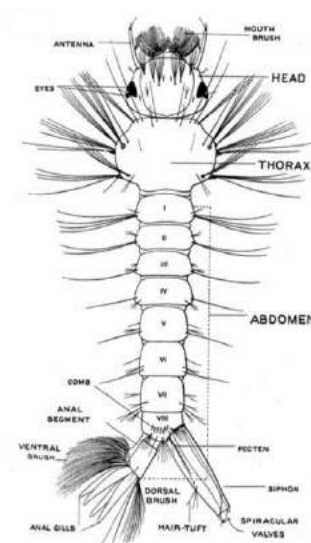
Pada fase telur, *Ae. aegypti* memiliki bentuk telur yang oval memanjang dengan warna kehitaman (Gambar 2.1). Pada dinding telurnya dapat dijumpai gambaran seperti jaring (Dachlan dkk, 2019). Telur *Ae. aegypti* diletakkan secara soliter atau terpisah antara satu telur dengan telur yang lain pada bagian dalam tempat air. (Muller and Durden, 2019)



Gambar 2.1 Telur *Ae. aegypti* (Muller and Durden, 2019)

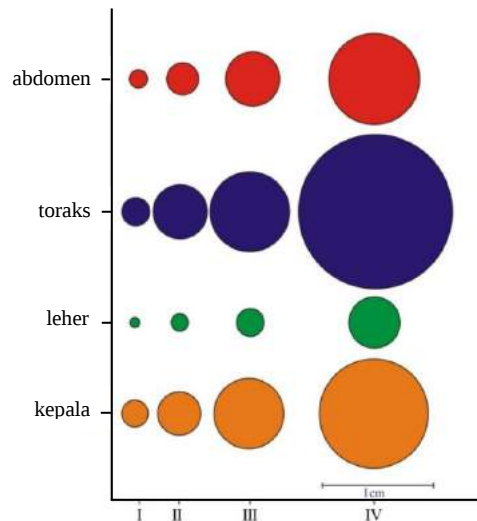
Larva nyamuk secara umum memiliki tubuh yang terdiri atas bagian kepala, toraks, dan abdomen. Kepala dan toraks dipisahkan oleh leher (Bar and Andrew, 2013). Pada kepala dapat dijumpai perbedaan tipe mulut dari setiap spesies nyamuk. Sikat palatal lateral pada labrum menciptakan aliran air yang menarik partikel melayang atau tersuspensi ke mulut. Penyapu dan kuas pada rahang bawah, dan kuas pada rahang atas, diperkirakan mengumpulkan dan mengemas partikel untuk membuat bolus makanan di faring. Di Toraks memiliki tiga segmen, yaitu pro-toraks, meso-toraks, dan meta-toraks. Bagian abdomen dibagi menjadi 10 segmen. (Muller and Durden, 2019)

Larva *Ae. aegypti* mempunyai tipe mulut penyapu (Gambar 2.2).Dachlan dkk (2019) menjelaskan pada meso-toraks dan meta-toraks dapat ditemukan struktur duri berwarna gelap. Bagian abdomen mempunyai struktur satu baris *comb teeth* berduri lateral dengan jumlah 8-16 gigi. Siphon yang berfungsi sebagai alat pernafasan berukuran gemuk pendek dengan bentuk kerucut. Pada struktur ini terdapat satu pasang *hairtuft*. (Muller and Durden, 2019)

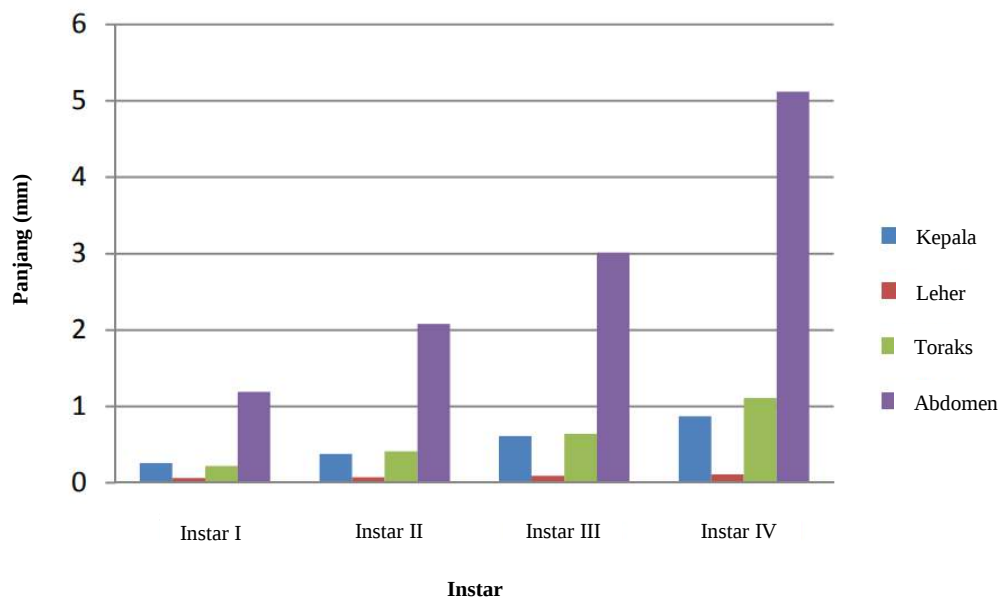


Gambar 2.2 Larva *Ae. aegypti* (Muller and Durden, 2019)

Panjang dan lebar struktur kepala, leher, toraks, dan abdomen pada larva memiliki ukuran yang berbeda. Hal ini ditentukan berdasarkan fase larva. Seiring dengan setiap fase instar larva, ukuran setiap struktur larva mengalami penambahan. Penambahan larva digambarkan pada gambar 2.3 dan gambar 2.4. (Bar and Andrew, 2013)

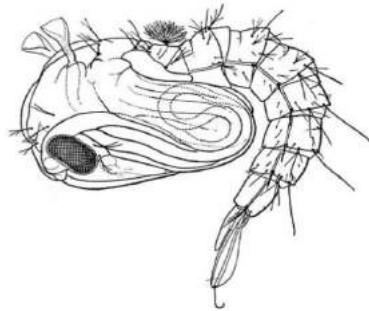


Gambar 2.3 Penambahan lebar larva *Ae. aegypti* (Bar and Andrew, 2013)



Gambar 2.4 Penambahan panjang larva *Ae. aegypti* (Bar and Andrew, 2013)

Pupa pada setiap spesies nyamuk memiliki morfologi dan histologi yang hampir sama. Muller and Durden (2019) menjelaskan pupa nyamuk berbentuk seperti koma dengan bagian kepala dan toraks bergabung melakukan fusi menjadi cephalotoraks. Sedangkan bagian abdomen terdiri dari 8 segmen dengan bentukan melengkung ke arah ventral (Gambar 2.5). Pada ujung segmen abdomen terminal terdapat sepasang alat dayung yang digunakan pupa untuk bergerak di dalam air. Fungsi pernafasan pada fase ini diperankan oleh *air trumpet* yang terdapat di bagian dorsal dari cephalotoraks.



Gambar 2.5 Pupa *Ae. aegypti* (Mullen and Durden, 2019)

Nyamuk dewasa dapat dibedakan jantan dan betina berdasarkan morfologinya. Secara umum, tubuh nyamuk dewasa dibagi menjadi kepala, toraks, dan abdomen (Dachlan dkk, 2019). Pada bagian kepala, perbedaan antara jantan dan betina terletak pada bentuk dan struktur dari antena dan proboscis. Bagian toraks terdiri atas pro-toraks, meso-toraks, dan meta-toraks. Pada sisi dorsal, meso-toraks dan meta-toraks dipisahkan oleh scutellum. Bentuk scutellum dan penampakan garis pada sisi dorsal dapat digunakan untuk menentukan subfamili dan spesies nyamuk. Pada bagian toraks tumbuh sayap dengan warna sisik berbeda sesuai dengan genus nyamuk yang dimaksud.

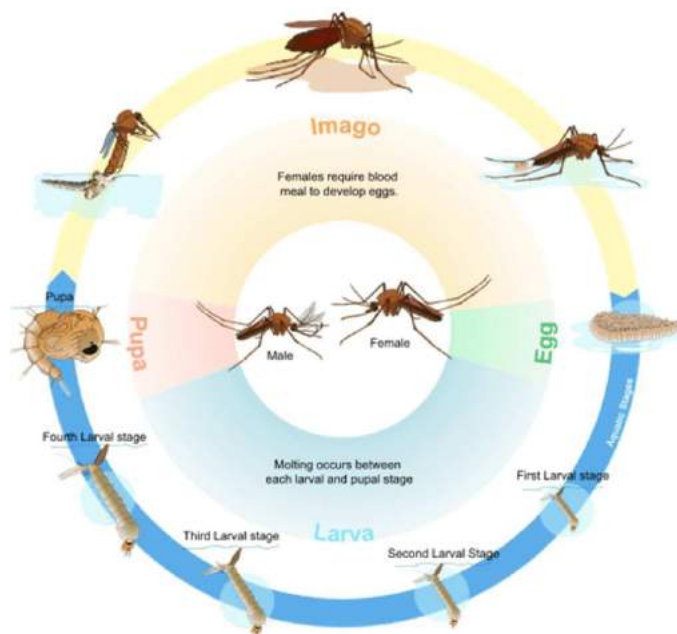
Nyamuk jantan mempunyai antena berbulu lebat dan panjang yang disebut sebagai *plumose*, sedangkan pada betina, antena mempunyai bulu yang jarang dan pendek yang dikenal sebagai *pilose*. Antena pada nyamuk berada pada sisi lateral dari palpus maxilaris (Dachlan dkk, 2019). Proboscis merupakan bentuk mulut pada nyamuk dengan panjang sedikitnya $\frac{2}{3}$ dari panjang abdomen yang terdapat pada sisi medial dari palpus maxilaris. Proboscis terdiri atas labrum, sepasang mandibula, hypopharynx, sepasang maksila, dan labium. Pada nyamuk jantan, maksila dan mandibula mengalami atrofi, sehingga tidak dapat menembus kulit manusia. Berbeda dengan nyamuk jantan, labrum, mandibula, hypopharynx, dan maksila pada nyamuk betina akan membentuk stylet tipis yang memungkinkan untuk menembus kulit dan menghisap darah host. (Mullen and Durden, 2019)

Ae. aegypti jantan mempunyai kepala dengan palpus yang sama panjang dengan proboscis serta antena tipe *plumose* (Mullen and Durden, 2019). Sedangkan pada betina memiliki palpus yang lebih pendek dari proboscis dan antena tipe *pilose*. Bagian toraks *Ae. aegypti* mempunyai scutellum berbentuk segitiga atau *trilobi*. Pada bagian dorsal dari toraks terdapat garis putih lurus di tengah dan garis putih melengkung di sisi lateral, sehingga berbentuk seperti alat musik lira. Sayap *Ae. aegypti* memiliki sisik berwarna gelap. (Dachlan dkk, 2019)

2.1.6 Siklus Hidup

Siklus hidup holometabolous nyamuk terjadi di dua lingkungan yang berbeda. Hal ini ditentukan pada setiap fase metamorfosis dari nyamuk. Metamorfosis sempurna nyamuk meliputi fase telur, larva, pupa, dan nyamuk dewasa tampak pada Gambar 2.6 (Dachlan dkk, 2019; Eilerts, 2017). Pada fase telur hingga larva, nyamuk berkembang di lingkungan akuatik. Nyamuk dewasa lebih bebas berhabitat guna memenuhi kebutuhan pangan dan istirahat. (Mullen and Durden, 2019)

Mullen and Durden (2019) menjelaskan bahwa telur nyamuk *Ae. aegypti* diletakkan pada substrat yang nantinya akan digenangi air. Pada awal fase ini, telur masih berwarna putih. Beberapa jam kemudian, warna telur akan menjadi lebih gelap seiring pembentukan *chorion* pada dinding telur. Pada iklim tropis dan subtropis, fase telur berlangsung dalam 2-3 hari. Sedangkan pada iklim dingin, fase ini dapat berlangsung 1 minggu atau lebih. Telur *Ae. aegypti* memiliki toleransi terhadap suhu dingin dan kekeringan. Penetasan umumnya terjadi pada suhu hangat dengan bantuan aktivitas mikroba yang menyebabkan penurunan kadar oksigen dalam air.



Gambar 2.6 Siklus Hidup *Ae. aegypti*. (Eilerts, 2017)

Ae. aegypti menyelesaikan fase larva dalam 5-6 hari pada kondisi nutrisi dan suhu yang ideal. Suhu ideal yang diperlukan adalah 26-28°C. Fase larva terdiri dari 4 instars. Instar 1 hingga 3 berlangsung masing-masing 1 hari, dan instar 4 berlangsung 3 hari (Mullen and Durden, 2019). Setiap perkembangan dari instar satu ke instar selanjutnya, larva akan melakukan molting atau pergantian kulit karena struktur kitin yang keras membatasi larva untuk terus bertumbuh. Proses ini memerlukan enzim kitin sintetase. Enzim dapat aktif dengan adanya enzim-enzim protease. Selain hal

tersebut, hormon juvenile dan ecdison berperan dalam meregulasi perkembangan pupa. Kegagalan larva dalam melakukan molting akan menyebabkan larva bertahan pada instar yang sama dan berakhir dengan kematian. (Trisyono, 2019)

Fase pupa pada *Ae. aegypti* merupakan fase peralihan dari larva menjadi dewasa. Pada fase ini, pupa menghabiskan sebagian besar waktunya di permukaan air. Pertumbuhan pupa menjadi dewasa umumnya memerlukan waktu 2 hari pada air dengan suhu hangat. (Mullen and Durden, 2019)

Nyamuk dewasa memiliki perbedaan habituasi pada jantan dan betina. *Ae. aegypti* betina merupakan *anautogenous*. Namun demikian, pada awal fase dewasa (3-5 hari), baik jantan maupun betina mendapat nutrisi hanya dari nektar tumbuhan dan madu. *Ae. aegypti* jantan dapat meng inseminasi beberapa betina sebelum sperma matur dan sekresi kelenjar aksesorius habis. Persediaan semen dapat kembali diproduksi dalam beberapa hari. Pada *Ae. aegypti* betina, kemampuan bereproduksi hanya terjadi satu kali. (Mullen and Durden, 2019)

2.1.7 Pengendalian Nyamuk

Upaya pengendalian nyamuk dapat dilakukan melalui metode. penggunaan larvasida, insektisida, *insect growth regulator*, agen mikroba, dan pengendalian terpadu.

Larvasida merupakan senyawa yang digunakan untuk membunuh larva, termasuk larva *Ae. aegypti*. Penggunaan metode ini sering digunakan. Di kalangan masyarakat Indonesia, larvasida yang umum dikenal adalah Abate. Produk ini menggunakan bahan aktif berupa temefos. Konsentrasi minimal yang dapat menimbulkan efek letal pada larva *Ae. aegypti* berkisar antara 0,00125 ppm hingga 0,00214 ppm. (Fuadzy dkk, 2015)

Mekanisme kerja insektisida ditujukan pada serangga dewasa. *Ae. aegypti* dewasa umumnya dibasmi menggunakan insektisida melalui *thermal fogging*/pengasapan atau *Ultra Low Volume* (ULV) (Sutarto dan Syani, 2018). Kandungan pada insektisida seringkali menimbulkan dampak resistensi. Resistensi ini tidak hanya spesifik pada spesies nyamuk, namun juga dapat terjadi pada serangga lainnya. (Fuadzy dkk, 2015)

Kandungan aktif dalam larvasida maupun insektisida, umumnya dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerja dan golongan senyawa kimia yang digunakan. *Insect Growth regulator* (IGR) merupakan senyawa aktif dalam insektisida maupun larvasida yang bekerja dengan cara mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan serangga, termasuk nyamuk. Penggunaan senyawa ini juga dikenal sebagai Insektisida Pengganggu Pertumbuhan dan Perkembangan Serangga (IPPPS). IGR digolongkan menjadi 5 subkelompok berdasarkan mekanismenya. Subkelompok itu diantaranya adalah penghambat sintesis kitin, peniru hormon juvenil, agonis ecdison, antihormon juvenil, dan antiecdison (Trisyono, 2019). Salah satu IGR yang dapat digunakan dalam membasmi *Ae. aegypti* adalah IGR berbahan aktif Pyriproxifen. Bahan aktif ini bekerja dengan cara meniru hormon juvenil. (Solichah, Martini, dan Susanto, 2016)

Upaya pengendalian *Ae. aegypti* juga dapat memanfaatkan kemampuan agen mikroba. Mahdalena dan Ni'mah (2019) mengelompokkan agen mikroba pembasmi *Ae. aegypti* menjadi 2 kelompok, yaitu bakteri dan fungi. Efektifitas kedua kelompok mikroorganisme tersebut ditentukan berdasarkan efek toksik yang dihasilkan baik terhadap telur, larva, hingga nyamuk dewasa sesuai dengan spesies mikroorganisme yang digunakan. Contoh kelompok bakteri adalah *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Wolbachia pipientis*, *Bacillus mycoides*, *Klebsiella ozaenae*, dan

Pseudomonas pseudomallei. Sedangkan yang termasuk kelompok fungi adalah *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae*.

Pengendalian terpadu merupakan program manajemen pengendalian vektor penyakit yang terorganisir baik di tingkat lokal, regional, maupun nasional dengan metode yang efisien dan ramah lingkungan (Mullen and Durden, 2019). Proses pelaksanaan upaya ini tak terlepas dari kebijakan pemerintah dalam menentukan langkah strategis terkait masalah kesehatan yang berhubungan dengan transmisi dari vektor penular.

Di negara berkembang, upaya ini lebih menekankan kerjasama dengan komunitas, penggunaan teknologi sederhana, keberlanjutan dan adaptasi dari berbagai alat control terintegrasi yang disesuaikan dengan adat, kondisi, dan sumber daya yang tersedia. Sebagai contoh penggunaan kelambu dengan insektisida piretroid sintesis guna mencegah gigitan nyamuk (Mullen and Durden, 2019). Indonesia yang merupakan salah satu negara dengan kasus penyakit akibat gigitan nyamuk *Ae. aegypti* juga turut melakukan upaya pengendalian terpadu melalui program Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN). (Indrayani dan Wahyudi, 2018)

2.2 Virus Dengue

2.2.1 Definisi

Virus Dengue merupakan suatu virus dari genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae* (Kemenkes RI, 2010). Virus famili *Flaviviridae* memiliki selubung bulat dengan kapsid protein tunggal, dua hingga tiga protein membrane dan RNA genomik untai positif. Replikasi famili ini berlangsung di sitoplasma pada membrane retikulum endoplasma yang dimodifikasi menjadi paket vesikel yang memungkinkan replikasi terjadi (Murugesan and Manoharan, 2020). Penggolongan virus Dengue berdasarkan serotipe dibagi menjadi Den-1, Den-2, Den-3, dan Den-4 (Kemenkes RI, 2010).

Partikel virus Dengue dewasa memiliki diameter 500 Å dengan inti *electrondense* yang dikelilingi oleh *lipid bilayer*, di mana dua protein virus transmembran masuk membentuk cangkang glikoprotein. Inti mengandung nukleokapsid yang dibentuk oleh genom RNA virus dalam kompleks. Cangkang glikoprotein dibentuk dengan baik dan terdiri dari 180 salinan sampul dan protein membrane. Sampul ditemukan sebagai 90 homodimer *head-to-tail* yang terletak rata pada permukaan virus membentuk cangkang protein halus. (Kuhn et al., 2002)

Penyakit klinis berkembang 5-8 hari setelah gigitan nyamuk yang terinfeksi. Seringkali penyakit berjalan ringan sekitar seminggu, yang mengarah ke pemulihan total. Namun, virus Dengue dapat menjadi parah pada kasus IVD dan Sindrom Syok Dengue, yang keduanya umumnya terjadi pada anak-anak dan mungkin berakibat fatal. (Muller and Durden, 2019)

2.2.2 Siklus Hidup

Virus Dengue memasuki sel inang melalui edositosis yang dimediasi reseptor dengan melibatkan pengikatan protein sampul dengan reseptor seluler. Selanjutnya, virus berdifusi di sepanjang permukaan sel menuju lubang berlapis clathrin yang sudah ada sebelumnya. Dengan bantuan dinamin, lubang yang dilapisi clathrin berevolusi menjadi vesikel berlapis clathrin, dan vesikel yang mengandung virus ini dikirim ke endosom awal, yang kemudian menjadi matang menjadi endosom lanjut. Masuknya endosom memungkinkan pelepasan nukleokapsid. (Murugesan and Manoharan, 2020)

Pelepasan nukleokapsid ke sitoplasma, menyebabkan pelepasan selubung genom, yang melibatkan pemisahan protein kapsid dari RNA. RNA virus dilepaskan dalam sitoplasma sebagai mRNA. Terjemahan *open reading frame* (ORF) tunggal di retikulum endoplasma kasar menghasilkan poliprotein besar, yang menampilkan

topologi kompleks pada membran retikulum endoplasma. Setelah protein virus diterjemahkan dan diproses, terjadi hipertrofi yang diinduksi oleh virus dari membran intraseluler. (Murugesan and Manoharan, 2020)

Sintesis RNA terjadi di kompleks replikasi virus yang berhubungan erat dengan membran sel, khususnya di dalam paket vesikel. Proses replikasi dimulai dengan sintesis RNA untai negatif komplementer, yang berfungsi sebagai templat untuk amplifikasi RNA genomik untai positif tambahan. Proses replikasi menunjukkan adanya sekresi nukleokapsid. (Murugesan and Manoharan, 2020)

Nyamuk *Ae. aegypti* yang menghisap darah dengan virus Dengue akan mampu menjadi vektor IVD. Virus Dengue juga dapat diturunkan pada telur *Ae. aegypti* secara transovarial (Satoto *et al*, 2018). Telur yang sudah mengandung virus Dengue masih tetap memiliki potensi melanjutkan siklus hidupnya hingga menjadi dewasa.

2.2.3 Perkembangan di Dalam Tubuh Vektor

Proses masuknya virus Dengue ke dalam tubuh nyamuk, khususnya *Ae. aegypti*, terjadi ketika nyamuk menghisap darah yang sudah mengandung virus Dengue. Virus yang terdapat dalam darah akan menginfeksi dari bagian midgut ke *carcass*. Proses perkembangan virus ini akan berlanjut hingga virus Dengue bermuara di kelenjar ludah nyamuk. Ketika nyamuk menghisap darah, virus Dengue yang terdapat di kelenjar ludah juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia. (Novelo *et al*, 2019)

Virus Dengue dapat menyebabkan seekor nyamuk terinfeksi tanpa menimbulkan sifat patogen pada tubuh nyamuk. Hal ini dikarenakan adanya imunitas bawaan pada nyamuk melalui strategi jalur persinyalan antivirus, protein komplemen, dan RNA kecil (Mukherjee *et al*, 2019). Meskipun tidak bersifat patogen pada tubuh nyamuk, virus Dengue dapat menyebabkan perubahan habituasi. Gaburro *et al* (2018)

menyebutkan bahwa infeksi virus dengue pada nyamuk yang berhabitat dekat dengan skatol dapat mempengaruhi preferensi olfaktori nyamuk dalam menentukan oviposisi.

2.3 Larvasida

2.3.1 Definisi

Larvasida mengandung kata *Lar*. Dalam bahasa Yunani, *Lar* berarti larva atau ulat (Sudarmo, 1991). Sehingga larvasida merupakan senyawa yang digunakan untuk membunuh larva. WHO (2009) juga menjelaskan senyawa yang menimbulkan efek mortalitas terhadap larva dapat digolongkan sebagai larvasida.

2.3.2 Mekanisme Larvasida

Mekanisme larvasida dalam membunuh larva dipengaruhi oleh jenis larvasida yang digunakan. Kandungan aktif dalam larvasida menjadi faktor pembeda terkait efek yang ditimbulkan pada larva. WHO (2009) menyebutkan beberapa senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai larvasida, di antaranya adalah methoprene, pyriproxyfen, dan temefos.

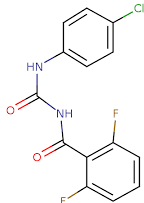
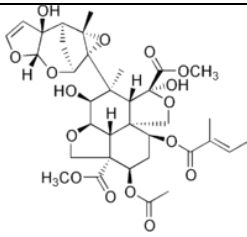
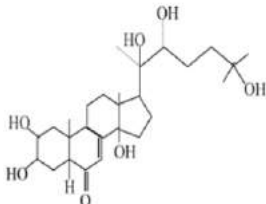
Methoprene termasuk ke dalam *Insect Growth Regulator* (IGR). Methoprene bekerja sebagai analog hormon juvenil pada nyamuk. Zat ini menyebabkan larva tidak dapat berkembang menjadi dewasa. (Sudarmo, 1991)

Pyriproxyfen juga merupakan senyawa yang bekerja sebagai analog hormon juvenil. Namun demikian, Fiaz *et al* (2019) menemukan bahwa pyriproxyfen mempunyai efek besar terhadap midgut larva *Ae. aegypti*. Digesti pyriproxyfen oleh larva *Ae. aegypti* menyebabkan sel pencernaan midgut larva (racun perut) mengalami fragmentasi mikrovili, disorganisasi sitoplasma, dan deformitas pada mitokondria. Selain itu, pyriproxyfen juga menyebabkan perubahan perilaku larva berupa penurunan mobilisasi dan peningkatan masa istirahat pada larva.

Temefos tergolong ke dalam senyawa organofosfat. Golongan ini menyerang larva pada sistem neurotransmitter. Secara spesifik, temefos mempengaruhi sistem neurotransmitter larva dengan cara menempel pada enzim di *post-sinaps* yang dikenal dengan asetilkolinesterase (AChE) sehingga menghambat kerja enzim tersebut. Enzim ini memecah asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat. Asetilkolin merupakan neurotransmitter yang berperan dalam sistem otonom yang dapat ditemukan pada otot polos organ dalam, otot jantung dan kelenjar eksokrin (Sukohar, 2014). Awal kontaminasi temefos pada larva dapat melalui kontak kulit, pernafasan, maupun pencernaan. (Sutarto dan Syani, 2018)

Selain ketiga contoh tersebut, mekanisme kerja larvasida yang tergolong sebagai IGR juga dapat digolongkan pada 3 kelompok yaitu pengmabta sintesis kitin, peniru hormone juvenile, dan agonis edikson (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Larvasida golongan IGR (Trisyono, 2019)

Kelompok	Contoh	Struktur kimia	Mekanisme kerja	Kelebihan	Kekurangan
Penghambat sintesis kitin	Diflubenzuron	 (T3DB, 2014)	Menghambat enzim kitin sintetase, polimerisasi N-asetilglukosamin, dan transportasi UDP-N-asetilglukosamin	Bekerja pada seluruh siklus hidup serangga	Efek kematian terlihat lambat (berhari-hari), sepktrum target yang sempit
Peniru hormon Juvenil	Azadiraktin	 (KLHK, 2015)	Menghasilkan peniru homron juvenil yang menyebabkan gangguan fisiologi pada larva, sehingga larva tidak dapat berkembang menjadi pupa	Memiliki selektivitas lebih baik dibanding larvasida organofosfat, bekerja pad seluruh siklus hidup serangga	Cepat meninmbulkan resistensi, kematian larva memerlukan waktu yang cukup lama (berhari-hari)
Agonis Edikson	20-Hidroedikson	 (Trisyono, 2019)	Mempengaruhi gen reseptor hormon 3 <i>Manduca</i> (MHR3), gen protein endokutikula (LCP-14), dan gen dopa karboksilat (DDC)	Berpotensi menjadi larvasida nyamuk, khususnya <i>Culex pipiens</i>	Efek terhadap nyamuk (ordo diptera) lebih rendah

Penggunaan minyak mineral dan film mononuklear juga dapat menyebabkan efek letal pada larva. Mekanisme minyak dan film tersebut adalah melalui efek toksik yang tersebar pada permukaan air tempat larva dan pupa nyamuk berkembang. Minyak dan film merupakan salah satu solusi untuk membunuh nyamuk pada fase pupa. (CDC, 2020)

Berbagai penelitian menunjukan adanya senyawa-senyawa aktif lain yang dapat dijadikan alternatif sebagai larvasida. Sebagai contoh kandungan senyawa eukaliptol yang diambil dari minyak esensial pada *Vitex negundo* dan *Vitex trofilia* (Chandrasekaran *et al*, 2018). Tumbuhan yang digunakan sebagai larvasida dapat menghasilkan lebih dari satu senyawa aktif. Sasmilati, Pratiwi, dan Saktiansyah (2017) menjelaskan aktivitas larvasida pada bawang putih disebabkan oleh adanya kandungan senyawa alkaloid, tannin, dan terpenoid.

2.3.3 Jenis Larvasida

Penggolongan larvasida ditentukan berdasarkan kelompok besar pada berbagai larvasida yang memiliki kesamaan. Berdasarkan sumber senyawa aktif yang terkandung, larvasida dibagi menjadi larvasida alami dan buatan serta larvasida bakteri. Berbagai larvasida umumnya memiliki kemampuan sebagai insektisida dalam konsentrasi tertentu. Dengan demikian, penggolongan larvasida dimungkinkan mengikuti penggolongan insektisida.

Larvasida buatan merupakan larvasida yang disintesis dari senyawa-senyawa toksik terhadap larva. Larvasida buatan yang terkenal adalah produk Abate yang mengandung senyawa aktif temefos (Fuadzy dkk, 2015). Golongan larvasida buatan

dapat dibedakan menjadi empat kelompok, yaitu golongan organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid. (Sutarto dan Syani, 2018)

Larvasida alami adalah larvasida yang dibuat dari sumber alami, seperti tumbuhan. Pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber senyawa aktif larvasida umumnya diperoleh dari bagian tertentu pada tumbuhan. Sebagai contoh kandungan alkaloid, tannin, dan terpenoid pada umbi bawang putih secara sinergis mampu memberikan efek mortal pada larva *Ae. aegypti* (Sasmilati, Pratiwi, dan Saktiansyah, 2017). Dari contoh tersebut, kandungan yang diperoleh pada larvasida alami berpotensi lebih bervariasi dibanding pada larvasida buatan.

Larvasida bakteri merupakan larvasida yang memanfaatkan mikroorganisme untuk membunuh larva. Contoh kelompok bakteri adalah *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Wolbachia pipientis*, *Bacillus mycoides*, *Klebsiella ozaenae*, dan *Pseudomonas pseudomallei* (Mahdalena dan Ni'mah, 2019). Mekanisme kerja bakteri larvasida, seperti *Bacillus thuringiensis*, adalah dengan menghasilkan endotoksin ketika bakteri masuk ke dalam tubuh serangga. (Bahagaiawati, 2002)

2.3.4 Uji Laboratorium dan Lapangan

Penelitian terkait pembuatan larvasida baru telah ditentukan oleh WHO tentang *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides* (No. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13). Pengujian zat yang memberikan efek larvasida dilakukan dalam 3 tahap, yaitu uji laboratorium, uji lapangan berskala kecil, dan uji lapangan berskala besar. (WHO, 2005)

Uji laboratorium digunakan untuk menentukan biopotensi dari bahan teknis atau, dalam larvasida yang sudah diformulasi, uji laboratorium bertujuan untuk menentukan aktivitas larvasida tersebut. Untuk mengevaluasi aktivitas biologis larvasida nyamuk,

larva nyamuk dipelihara di laboratorium dari usia atau instar yang diketahui (rujukan strain atau F1 dari nyamuk yang dikumpulkan di lapangan). Larva ini dibiarkan terpapar selama 24 jam hingga 48 jam atau lebih dalam air yang diolah dengan larvisida di berbagai konsentrasi dalam rentang kegiatannya untuk kemudian dilakukan pencacatan jumlah kematian larva. Tujuan dari tes ini adalah untuk menetapkan garis dosis-respons terhadap vektor yang rentan; untuk menentukan *Lethal Concentration* (LC) larvasida untuk 50% dan 90% kematian (LC50 dan LC90) atau untuk 50% dan 90% penghambatan kemunculan spesies dewasa atau *Inhibition of adult emergence* (IE50 dan IE90); untuk menetapkan konsentrasi diagnostik yang dapat menimbulkan kerentanan terhadap larvisida nyamuk di lapangan; dan untuk menilai resistensi silang dengan insektisida yang umum digunakan.

Pengujian laboratoris diawali dengan penentuan aktivitas biologis dari larvasida. Pengujian ini disesuaikan dengan jenis larvasida, yaitu, *Insect Growth Regulator* (IGR), produk bakterial, dan larvasida selain IGR maupun produk bakterial. Pengujian pada larvasida selain IGR maupun produk bakterial adalah sebagai berikut:

Awalnya, larva nyamuk diberikan berbagai tes konsentrasi dan kontrol untuk mengetahui kisaran aktivitas bahan yang diuji. Setelah menentukan mortalitas larva di rentang konsentrasi yang luas, dilakukan pengujian pada rentang yang lebih sempit (dari 4–5 konsentrasi, menghasilkan antara 10% dan 95% kematian dalam 24 jam atau 48 jam) untuk menentukan nilai LC50 dan LC90.

Sejumlah 25 larva instar ketiga atau keempat dipindahkan dengan cara saringan, loop layar atau droppers ke gelas uji kecil atau bejana, setiap berisi 100–200 ml air. Larva yang rusak, kecil, atau tidak sehat harus dibuang dan diganti. Kedalaman air

dalam gelas atau bejana harus tetap antara 5 cm dan 10 cm; tingkat yang lebih dalam dapat menyebabkan kematian yang tidak semestinya.

Volume pengenceran yang sesuai ditambahkan ke 100 ml atau 200 ml air dalam gelas untuk mendapatkan dosis target yang diinginkan, dimulai dengan konsentrasi terendah. Empat atau lebih ulangan disiapkan untuk setiap konsentrasi dan jumlah kontrol yang sama diatur secara bersamaan dengan air ledeng, yang ditambahkan 1 ml alkohol (atau pelarut organik). Setiap tes harus dijalankan tiga kali pada hari yang berbeda. Untuk eksposur lama, makanan larva harus ditambahkan ke setiap cangkir tes, terutama jika angka kematian tinggi dicatat dalam kontrol. Tempat uji ditahan pada 25–28°C dan lebih baik menggunakan fotoperiode dengan cahaya 12 jam diikuti dengan 12 jam tanpa cahaya.

Setelah 24 jam pajanan, mortalitas larva dicatat. Untuk insektisida kerja lambat, 48 jam membaca mungkin diperlukan. Larva yang hampir mati dihitung dan ditambahkan ke larva yang mati untuk menghitung persentase kematian. Larva mati adalah mereka yang tidak dapat digerakkan atau bergerak ketika mereka diperiksa dengan jarum di siphon atau daerah serviks. Larva yang hampir mati adalah mereka yang tidak mampu naik ke permukaan atau tidak menunjukkan reaksi penyelaman yang khas ketika air terganggu. Pencatatan larva yang tergolong mati dan hampir mati digunakan untuk menentukan nilai LC50, LC90 dan LC99. Penelitian juga memerlukan analisis kemiringan dan heterogenitas. Jika lebih dari 10% dari larva kontrol menjadi kepompong selama percobaan, tes harus dibuang dan diulang. Jika mortalitas kontrol adalah antara 5% dan 20%, mortalitas kelompok yang diobati harus diperbaiki sesuai dengan rumus Abbott:

$$Mortalitas = \frac{X - Y}{X} - 100$$

Keterangan:

X : persentase kelangsungan hidup pada control yang tidak diobati

Y : persentase kelangsungan hidup pada sampel yang dirawat

Data dari semua ulangan harus dikumpulkan untuk analisis. Nilai LC50 dan LC90 dihitung dari garis regresi mortalitas dosis log probit menggunakan program perangkat lunak komputer, atau estimasi menggunakan kertas log-probit. Bioassay harus diulang setidaknya tiga kali, menggunakan larutan atau suspensi baru dan kumpulan larva yang berbeda setiap kali. Deviasi standar atau interval kepercayaan nilai rerata LC50 dihitung. Serangkaian uji valid jika simpangan baku relatif (atau koefisien variasi) kurang dari 25% atau jika batas kepercayaan LC50 tumpang tindih (tingkat signifikan pada $P < 0,05$). Potensi bahan kimia terhadap larva vektor dan strain tertentu kemudian dapat dibandingkan dengan nilai LC50 atau LC90 dari insektisida lain.

Konsentrasi diagnostik atau diskriminatif ditentukan dari garis regresi dosis-respons pengujian bahan teknis terhadap spesies vektor yang rentan sesuai dengan prosedur yang diuraikan. Konsentrasi diagnostik dua kali lipat dari estimasi nilai LC99.

Uji laboratorium juga memerlukan uji resistensi silang. Kandidat larvisida yang baru diuji secara bersamaan terhadap sejumlah kecil strain nyamuk multi-resistan yang berbeda dan strain yang rentan. Strain yang resisten harus diidentifikasi dengan menggunakan teknik pengujian yang baik. Strain sebaiknya homozigot untuk satu atau lebih mekanisme resistensi yang diketahui. Jika homozigositas tidak dapat dicapai, seleksi periodik biasanya diperlukan untuk mencegah seleksi alam yang mendukung yang rentan dengan mengorbankan resisten. Strain referensi yang sudah

ada harus secara teratur dipantau dengan uji bioassay dan biokimiawi dan/atau molekuler untuk dapat menilai dan memperbaiki sifat resistensi dengan seleksi.

Larvasida yang menunjukkan harapan dalam penelitian laboratorium dapat dikenakan uji lapangan skala kecil. Pengujian terhadap nyamuk dilakukan pada tempat perkembangbiakan alami nyamuk. Apabila tidak dapat menggunakan tempat perkembangbiakan alami, dapat menggunakan simulasi yang merepresentasikan kondisi alami.

Pengujian di tempat perkembangbiakan alami memerlukan sekurang-kurangnya tiga ulangan dari setiap jenis habitat yang dipilih secara acak untuk setiap dosis formulasi, dengan jumlah kontrol yang sama. Ukuran plot harus dicatat, dengan mempertimbangkan luas permukaan dan kedalaman. Sebisa mungkin, plot yang dipilih harus serupa dan sebanding. Setiap sumber atau tempat penangkaran dapat dianggap sebagai plot terpisah atau replikasi. Habitat seperti saluran air, saluran irigasi, sawah irigasi, sawah, sungai dan rembesan dapat dibagi menjadi area terpisah seluas 4–50 m² dan direplikasi untuk perawatan dan kontrol.

Pra perawatan kelompok imatur pada habitat alami (larva instar pertama dan kedua, larva instar ketiga dan keempat, dan pupa) harus dicatat di lokasi percobaan dan kontrol (minimal dua pengamatan pada interval yang sama). Metode pengambilan sampel harus sesuai dengan jenis habitat perkembangbiakan, dan jumlah sampel yang tepat harus diambil dari setiap habitat berdasarkan jenis dan ukuran habitat. Larva dan kepompong dari setiap sampel dihitung dan dicatat. Setidaknya tiga dosis larvasida yang berbeda harus diterapkan pada habitat perkembangbiakan.

Paska perawatan kelompok imatur (semua fase nyamuk) pada habitat alami harus dipantau pada hari 2 dan dilanjutkan pada setiap minggu sampai kepadatan

larva instar keempat di habitat yang diperlakukan mencapai tingkat yang sebanding dengan yang di kontrol.

Analisis data pada uji lapangan di habitat asli dilakukan dengan cara menentukan jumlah rerata pupa atau larva yang dikumpulkan per tempat untuk setiap replika pada sampel perlakuan dan kontrol untuk setiap hari pengamatan. Persentase pengurangan dalam kepadatan larva dan pupa akan diperkirakan untuk setiap replika dari setiap perlakuan menggunakan formula Mulla. Perbedaan antara perawatan satu dengan lainnya dapat dibandingkan dengan analisis varians dua arah (ANOVA) dengan perawatan dan jumlah hari sebagai faktor independen. ANOVA harus dilakukan setelah mengubah pengurangan persentase menjadi nilai arcsinus. Pengamatan setiap perlakuan atau dosis akan dibandingkan untuk menentukan efek residual dan dosis aplikasi optimal sejak pasca perawatan hingga pengurangan 80% atau 90% dari jumlah populasi.

Uji lapangan berskala kecil dapat dilakukan pada habitat yang disimulasikan. Dalam uji coba ini, beberapa tempat air buatan (guci, ember, tabung, silinder, dll.) ditempatkan di lapangan atau di bawah kondisi lapangan yang disimulasikan. Pengujian larvasida dilakukan terhadap larva yang dikumpulkan dari laboratorium atau yang dikumpulkan di lapangan. Jenis dan ukuran tempat akan tergantung pada habitat larva alami dari spesies nyamuk target.

Tempat berisi air diberikan setidaknya 24 jam untuk pengkondisian atau penuaan. Sekelompok 25-100 larva instar ketiga yang dipelihara di laboratorium dari spesies nyamuk yang akan diuji dilepaskan ke setiap tempat dan ditambahkan makanan larva. Setelah 2-3 jam aklimasi larva, tempat diberikan dosis terpilih secara acak menggunakan pipet atau semprotan tangan, atau dengan menyebarkan bahan padat di atas permukaan air.

Tempat ditutup dengan saringan nilon atau penutup padat untuk mencegah nyamuk lain atau serangga bertelur dan melindungi air dari serpihan yang jatuh. Ketinggian air dalam tempat harus dipertahankan. Minimal empat replika dari setiap dosis dan empat kontrol harus digunakan. Untuk agen yang bertindak cepat, semua tempat diperiksa setelah 48 jam dan larva hidup dihitung untuk menilai mortalitas larva pasca perawatan.

Untuk menguji aktivitas residu, kumpulan baru larva instar ketiga yang dipelihara di laboratorium dari spesies nyamuk yang sama dikenalkan ke setiap tempat, dan makanan larva nyamuk ditambahkan secara harian maupun mingguan. Kelangsungan hidup larva dinilai 48 jam setelah penambahan, dan kulit pupa dihitung tujuh hari atau lebih setelah penambahan. Proses ini berlanjut sampai tidak ada kematian yang dicatat.

Sebagai alternatif, tes dapat dilakukan dengan memaparkan larva instar ketiga di lokasi pemuliaan alami kecil ke dosis tertentu larvisida menggunakan sangkar apung yang disaring (minimal tiga replika, dua sangkar setiap replika). sangkar ini harus memiliki lubang intip untuk memungkinkan pergerakan air dan makanan ke dalam kandang dari luar. Untuk setiap dosis, dipilih tiga habitat control yang diberikan perlakuan dan tiga habitat kontrol yang tidak diberikan perlakuan. Habitat diperlakukan dengan dosis bahan yang dipilih untuk diuji. Dua puluh lima larva instar ketiga yang dikumpulkan di laboratorium atau di lapangan, ditempatkan di setiap sangkar. Jumlah yang bertahan hidup dihitung setiap hari atau setiap tiga hari sekali sampai semua larva telah menjadi kepompong dan muncul. Persentase kematian dihitung.

Untuk menguji aktivitas residual, 25 instar ketiga ditentukan setiap minggu di kandang kontrol yang dirawat dan tidak dirawat. Seperti halnya kumpulan awal larva,

penilaian mortalitas harus dilakukan setiap dua atau tiga hari sekali setelah pengenalan. Pengaturan mingguan larva berlanjut sampai tidak ada perbedaan dalam mortalitas yang dicatat antara kontrol yang tidak dirawat dan kontrol yang dirawat.

Analisis data dari pengujian lapangan di habitat simulasi dapat disamakan dengan pengujian lapangan pada habitat alami. Namun demikian, karena denominator pada pengujian dengan simulasi dapat diketahui, penggunaan analisis regresi probit atau logistik lebih cocok dibanding ANOVA. Data tentang jumlah larva hidup dan mati serta kepompong di semua replika dari setiap dosis pada satu hari harus dikombinasikan beserta penghitungan persentase kematian. Regresi logistik atau probit dari persentase kematian dan jumlah hari pasca perawatan dapat digunakan untuk menentukan efektivitas dosis yang diberikan pada larva. Analisis ini dapat dilakukan dengan menggunakan paket perangkat lunak statistik yang sesuai.

Dosis aplikasi lapangan yang optimal untuk setiap jenis habitat merupakan dosis minimum yang dapat memberikan efek maksimum (langsung maupun residual). Frekuensi pemberian larvasida ditentukan berdasarkan kemunculan kembali larva instar keempat atau pupa. Dosis yang optimal akan digunakan dalam uji lapangan berskala besar.

Tahap terakhir pengembangan larvasida adalah uji lapangan berskala besar. Pada tahap ini, dosis yang sudah divalidasi pada uji lapangan berskala kecil diaplikasikan pada habitat alami larva menggunakan peralatan yang sesuai dengan formulasi. Habitat dipilih berdasarkan spesies nyamuk yang menjadi target. Semua habitat yang menjadi tempat perkembangbiakan alami nyamuk harus diuji. Minimal 25-30 replika dari setiap jenis habitat larva harus dipilih sebagai replika kontrol dan replika percobaan. Seperti halnya uji coba skala kecil, setiap habitat terbatas dapat dianggap

sebagai replika individu, sedangkan habitat yang lebih luas dibagi lagi menjadi replika 10 m².

Pengujian kepadatan pra perawatan pada uji lapangan berskala besar pada habitat kontrol dan habitat percobaan harus dilakukan seminggu, setidaknya dua kali sebelum diberikan perlakuan. Populasi imatur dan kemunculan dewasa harus diperkirakan di berbagai tipe habitat larva dengan menggunakan perangkat pengambilan sampel yang sesuai (seperti dalam uji coba lapangan skala kecil dengan populasi alami).

Larvasida diberikan pada seluruh habitat yang diuji menggunakan dosis yang paling optimal pada habitat utama nyamuk target.. Penilaian kepadatan pasca perawatan dievaluasi dengan koleksi sampel pada 48 jam. Kemudian, penilaian dilanjutkan setiap minggu dengan jumlah tempat atau kandang yang tetap. Metode sampling dapat menggunakan metode yang sama pada uji lapangan berkala kecil di habitat alami.

Uji coba khusus dan terpisah harus dilakukan untuk menilai dampak larvasida pada organisme non-target. Namun, selama uji coba skala besar, dan bila perlu, organisme non-target yang hidup bersama larva nyamuk dapat dihitung dan diperiksa untuk mengetahui dampak dari perawatan sambil mengambil sampel larva nyamuk. Ikan Larvivorous, siput, polychaetes, udang, kepiting, naiad, copepods, coleopterans dan heteropteran, ostracoda dan amphipods adalah beberapa organisme non-target yang hidup berdampingan dengan nyamuk.

Selama pengujian, observasi harus dilakukan terkait kemudahan penyimpanan, penanganan dan penerapan formulasi insektisida, serta efek dari formulasi insektisida pada aplikasi peralatan seperti ujung nozzle dan gasket, rotor, maupun blower. Observasi juga memperhatikan penerimaan penduduk daerah tersebut terhadap perlakuan insektisida.

Analisis data uji lapangan berskala besar dilakukan dengan menentukan jumlah rerata pupa atau larva atau organisme non-target yang dikumpulkan dari setiap replika pada setiap hari pengamatan, baik replika kontrol maupun replika yang diberi perlakuan. Analisis statistik untuk menentukan khasiat residu beserta jumlah hari pasca perawatan pada dosis optimal dilakukan mengikuti metode yang sama dengan analisis data uji lapangan berskala kecil di habitat alami.

2.4 Daun *Cassia siamea*

2.4.1 Klasifikasi

Daun *Cassia siamea* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Suku	: Caesalpiniaceae
Genus	: <i>Cassia</i>
Species	: <i>Cassia seamea</i>
Sinonim	: <i>Cassia siamea</i> Lam.; <i>Cassia florida</i> Vahl.; <i>Senna sumatrana</i> Roxb.; <i>Cassia arayatensis</i> Naves.
Nama lokal	: Bombay blackwood, iron wood, kassod tree, Siamese senna, shower, yellow cassia (Eng.); casse de Siam (Fr.); Juar, johar (Indonesia)

(Hendrati dan Hidayati, 2014)

2.4.2 Morfologi *Cassia siamea*

C. siamea merupakan tumbuhan berkayu (Gambar 2.7). Tumbuhan ini dapat tumbuh setinggi 2-20 m dengan daun menyirip genap. Daun *C. siamea* anak daun berbentuk oval memanjang dengan bagian atas tampak rata dan sedikit mengkilap, sedangkan bagian bawah tampak memiliki rambut halus (gambar 2.8). Bunga tanaman ini memiliki 5 kelopak dengan mahkota berwarna kuning cerah sepanjang 2 cm (Gambar 2.9). Benang sari pada bunga dapat tumbuh sepanjang 1 cm, kurang lebih sama panjang dengan bakal buah dan tangkai putik. (Steenis, 1997)



Sumber gambar: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.7 Pohon *C. siamea*



Sumber gambar: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.8 Daun *C. siamea*



Sumber gambar: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.9 Bunga *C. siamea*

2.4.3 Potensi Zat Larvasida

Penelitian potensi zat larvasida daun *C. siamea* telah dilakukan terhadap *Culex quinquefasciatus*. Ekstrak daun *C. siamea* yang diberikan menyebabkan mortalitas pada larva instar keempat selama 96 jam penelitian pada variasi konsentrasi 60 ppm hingga 960 ppm. Dalam penelitiannya juga didapati adanya korelasi antara tingkat mortalitas larva dengan konsentrasi ekstrak daun *C. siamea* yang digunakan. Pemberian ekstrak ini menyebabkan kerusakan sel epitel midgut pada larva. (Jiraungkoorskul and Jiraungkoorskul, 2015).

Pavananundt *et al* (2013) melakukan penelitian khasiat daun *C. siamea* sebagai larvasida nyamuk *Ae. aegypti*. Dalam penelitiannya, absorpsi zat aktif *C. siamea* oleh larva *Ae. aegypti* dapat menimbulkan kerusakan pada sel epitel dari midgut. Sitoplasma di sel epitel menunjukkan gambaran seperti gelembung yang juga dijumpai di beberapa area. Efek penggunaan ekstrak *C. siamea* yang dapat menyebabkan mortalitas pada larva melatarbelakangi inovasi penggunaan daun *C. siamea* sebagai larvasida nyamuk dengan spektrum yang luas. Ekstrak ini mungkin dapat diaplikasikan pada berbagai spesies nyamuk yang berbeda.

Efek letal pada nyamuk dapat disebabkan oleh kandungan bahan aktif dalam tumbuhan, seperti halnya pada *C. siamea*. Metode yang digunakan untuk mengambil bahan aktif tersebut dilakukan melalui ekstraksi maupun fraksinasi. Jenis bahan aktif digolongkan berdasarkan sifat kepolarannya dengan menggunakan pelarut, baik pelarut polar, pelarut semi polar, maupun pelarut non polar. Penggunaan metode ekstraksi umumnya dapat mengisolasi lebih banyak kandungan dari suatu bahan dibandingkan penggunaan metode fraksinasi. (Widawati dan Prasetyowati, 2013)

Ekstrak etanol 96% daun *C. siamea* sebagai larvasida mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan alkaloid (Ratu dan Bunjamin, 2019).

Flavonoid bekerja sebagai inhibitor respirasi larva dengan cara menghambat sistem pengangkutan elektron. Kondisi ini menyebabkan penurunan penggunaan oksigen oleh mitokondria dan penurunan produksi ATP. Tanin merupakan senyawa yang bersifat toksik. Zat ini menyebabkan gangguan penyerapan protein pada larva dengan cara menginaktivasi enzim, adenosine, serta protein sel. Gangguan ini akan menyebabkan hambatan pertumbuhan larva. Tanin juga dapat merusak membran sel larva, sehingga menyebabkan efek letal pada larva (Sasmilati, Pratiwi, dan Saktiansyah, 2017). Senyawa steroid, seperti fitoekdison, dapat mengganggu proses metamorfosis serangga karena strukturnya yang mirip dengan hormon perkembangan serangga (Hopkins and Huner, 2008). Alkaloid merupakan senyawa yang dapat menyebabkan efek letal pada larva karena efek neurotoksikanya. Alkaloid dapat mengakibatkan gagal nafas pada larva karena inhibisi enzim AchE. Selain itu, sinergi alkaloid dan terpenoid dapat menghambat mitosis sel. (Sogandi dan Gunarto, 2020)

Jenis polaritas pelarut akan mempengaruhi jenis bahan yang akan terisolasi. Flavonoid dan tanin merupakan senyawa polar sehingga dapat terisolasi dalam pelarut polar seperti air dan etanol. Alkaloid memiliki tingkat polaritas yang lebih rendah daripada flavonoid dan tanin. Senyawa ini masuk dalam golongan senyawa semipolar dan larut dalam pelarut etil asetat. Meskipun sebagai senyawa semipolar, alkaloid juga berpotensi dapat diisolasi dengan pelarut non-polar seperti N-heksana. Steroid merupakan senyawa non polar yang larut dalam N-heksana. Terpenoid dapat digolongkan sebagai senyawa semipolar maupun non polar. (Ratu dan Bunjamin, 2019)

Penelitian terkait khasiat tiap fraksi telah diujikan pada ekstrak air daun *Senna alata* atau *C. alata* dengan pelarut fraksi non polar menggunakan N-heksana. Meskipun jumlah bahan aktif polar lebih banyak dibandingkan bahan aktif semipolar,

namun efek larvasida fraksi polar lebih lemah dibandingkan fraksi non polar. Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang masih dapat terisolasi pada fraksi non polar. Efektifitas fraksi non polar ditentukan berdasarkan nilai dosis LC50 dan LC90 pada ekstrak N-heksana dari ekstrak air daun *Senna alata* menunjukkan dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi polar (Famuyiwa *et al*, 2020). Tingginya efek non polar dapat disebabkan adanya senyawa alkaloid yang dapat ditemukan lebih banyak pada fraksi semi polar dan non polar. Selain itu, sinergi alkaloid dengan terpenoid, khususnya triterpenoid, dapat menghambat mitosis sel pada larva *Ae. aegypti*. (Sogandi dan Guanrto, 2020)

2.5 Metode Ekstraksi dan Penentuan Kandungan Senyawa

Ekstraksi adalah metode pemisahan bahan dari campuran menggunakan pelarut tertentu. Metode ini umum dilakukan pada bahan nabati melalui proses pengelompokan, pengeringan, penggilingan, hingga pemilihan pelarut. Proses ekstraksi dibedakan menjadi beberapa jenis, seperti maserasi, *ultrasound-assisted solvent extraction*, perkolasi, soxhlet, refluks dan destilasi uap. (Mukhriani, 2014)

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang dikehendaki ke dalam wadah inert tertutup rapat pada suhu ruang. Metode ini umum digunakan karena sederhana. (Mukhriani, 2014)

Ultrasound-Assisted Solvent Extraction (UAE) merupakan ekstraksi secara maserasi dengan bantuan ultrasound. Metode ini mampu memberikan tekanan mekanik guna merusak sel, sehingga meningkatkan kelarutan zat terlarut dan penambahan hasil ekstraksi. (Mukhriani, 2014)

Perkolasi dilakukan dengan cara membasahi serbuk sampel secara perlahan di bawah perkolator. Perkolasi memungkinkan aliran pelarut yang senantiasa baru.

Namun, hal ini juga menimbulkan peningkatan kebutuhan pelarut dan lamanya proses ekstraksi. (Mukhriani, 2014)

Soxhlet adalah ekstraksi dengan menggunakan sarung selulosa yang ditempatkan di bawah kondensor dan di atas labu. Metode ini dapat meminimalkan waktu pembuatan ekstrak dengan pelarut yang relative lebih sedikit. Namun demikian, senyawa senyawa termolabil dapat terdegradasi karena berada pada titik didih dalam waktu lama. (Mukhriani, 2014)

Refluks dan destilasi uap memiliki konsep yang sama yaitu memanaskan bahan dengan pelarut di dalam labu yang terhubung dengan kondensor. Perbedaan diantara keduanya terletak pada kelebihan proses destilasi uap yang mampu memisahkan dua bagian yang tidak bercampur. Kerugian kedua metode ini adalah terdegradasinya senyawa-senyawa termolabil. (Mukhriani, 2014)

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dibedakan menjadi 3 macam berdasarkan sifat kepolaran senyawa dalam bahan yang dilarutkan, yaitu:

- a. Pelarut polar: air, metanol, dan etanol
- b. Pelarut semipolar: diklorometana dan etil asetat
- c. Pelarut non polar: N-heksana, kloroform, dan petroleum eter. (Mukhriani, 2014)

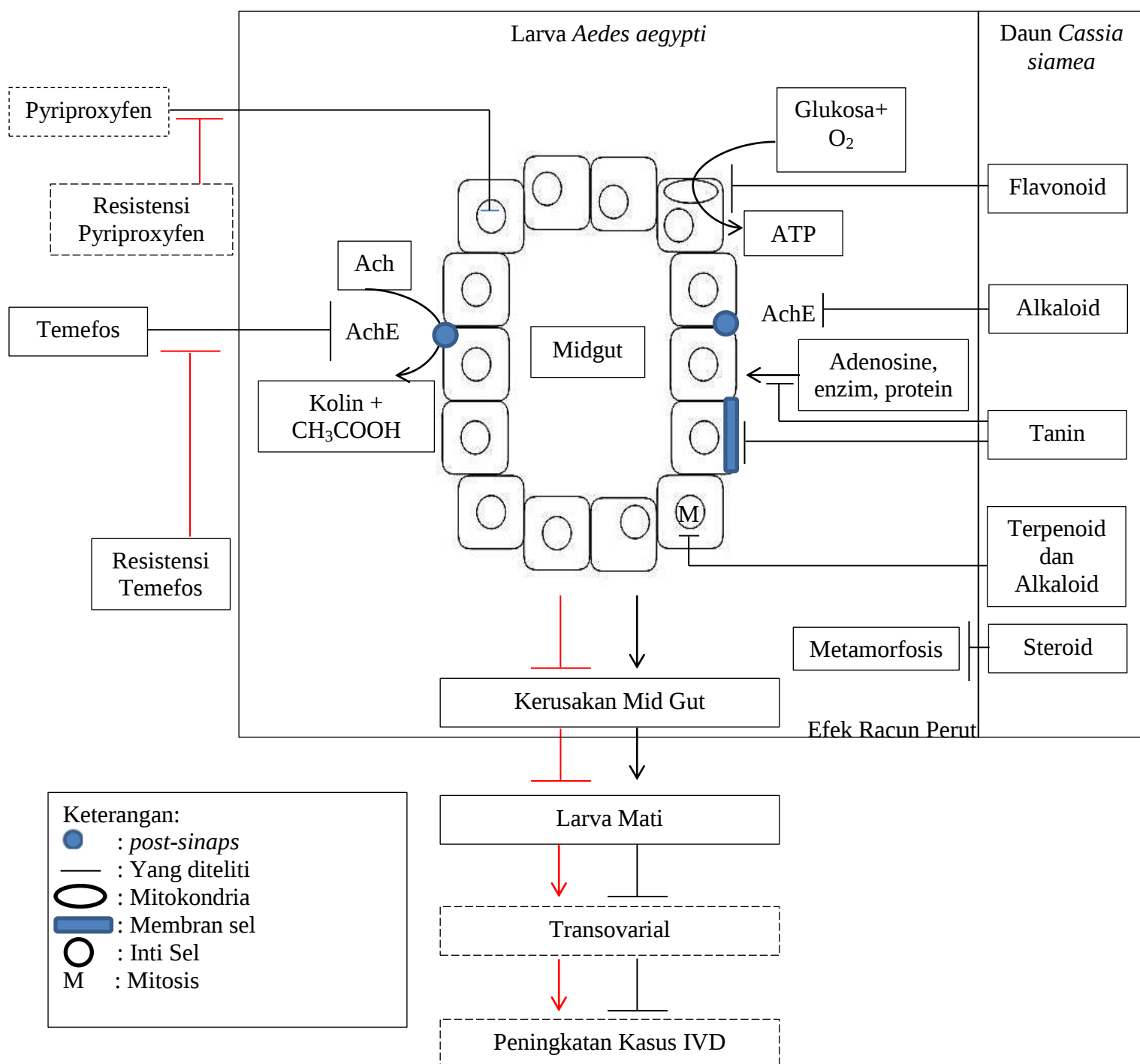
Perbedaan pelarut mampu menentukan jenis senyawa yang didapat dari ekstraksi. Upaya untuk menentukan jenis senyawa yang terlarut dapat dilakukan dengan penapisan fitokimia. (Mukhriani, 2014)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Kerangka konseptual penelitian digambarkan pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Temefos merupakan salah satu produk larvasida yang bekerja sebagai neurotoksik. Pemberian temefos pada larva *Ae. aegypti* dapat menimbulkan efek letal pada larva. Mekanisme kerja temefos berperan dalam inhibisi asetilkolin esterase (AChE) yang terdapat pada *post sinaps* larva. Inhibisi ini menyebabkan larva tidak mampu bergerak secara normal yang akhirnya berakibat pada kematian. Pyriproxyfen bekerja sebagai racun perut yang menyebabkan fragmentasi mikrovili, disorganisasi sitoplasma, dan deformitas pada mitokondria.

Penggunaan temefos maupun pyriproxyfen sebagai larvasida berpotensi menimbulkan efek resisten pada larva *Ae. aegypti*. Efek resisten ini menyebabkan larva dapat bertahan hidup meskipun telah terpapar. Larva yang berhasil bertahan hidup akan berkembang menjadi pupa dan nyamuk dewasa. Nyamuk *Ae. aegypti* dewasa dapat membawa virus Dengue sejak fase telur karena adanya transmisi transovarial. Dengan demikian, resistensi temefos dan pyriproxyfen dapat menimbulkan peningkatan kasus IVD, karena masih adanya vektor virus Dengue.

Upaya mengurangi kasus IVD dapat dilakukan dengan mengganti temefos dengan bahan aktif lain. Salah satu inovasi yang dapat digunakan adalah menggunakan daun *C. siamea*. Daun *C. siamea* dipilih karena bahan-bahan aktif seperti flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid, dan tanin mempunyai mekanisme dan lokasi kerja yang berbeda dengan temefos. Penggunaan flavonoid bekerja bersama terpenoid untuk menghambat mitosis sel dari larva. Tanin mempunyai 2 mekanisme kerja, yaitu mengganggu masuknya adenosin, enzim, dan protein ke dalam sel, serta menyebabkan kerusakan pada membran sel midgut larva. Steroid yang dihasilkan tumbuhan memiliki kemiripan dengan steroid pada larva, sehingga dapat mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan larva, seperti gangguan metamorfosis larva nyamuk.

Proses penggunaan daun *C. siamea* menjadi bahan uji memerlukan proses pengolahan terlebih dahulu, yaitu proses ekstraksi. Ekstraksi daun *C. siamea* dilakukan dengan menggunakan pelarut air dan pelarut N-heksana. Pelarut air secara maksimal dapat mengambil bahan-bahan aktif pada daun *C. siamea* yang bersifat polar. Sedangkan pelarut N-heksana digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non-polar.

Khasiat ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* sebagai larvasida ditentukan berdasarkan efektifitas kedua bahan tersebut dalam membunuh larva dan pengaruhnya terhadap larva. Efektifitas bahan ditentukan berdasarkan jumlah kematian dan pengaruh terhadap morfologi larva. Khasiat dari ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dapat berguna untuk mengurangi kasus IVD.

3.2 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat perbedaan mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*
2. Terdapat perbedaan perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium.

4.1.2 Rancangan Penelitian

Penelitian akan menggunakan 3 prinsip penelitian eksperimental laboratorium, yaitu replikasi, randomisasi, serta kontrol. Prinsip replikasi dilakukan dengan cara mengulang percobaan sebanyak 3 kali pada hari yang berbeda dengan pencatatan jumlah larva yang mati dilakukan setiap 24 jam selama 4 hari. Setiap 1 kali replikasi akan diamati jumlah larva yang mati di tempat yang berbeda. Setiap tempat akan diisi dengan 20 larva instar ketiga atau keempat. Tiap-tiap percobaan akan menguji larva dalam 1 tempat kontrol negatif, 1 tempat temefos 0,0001 ppm, 1 tempat kontrol dimetil sufoksida (DMSO) 1%, 5 tempat dengan variasi konsentrasi ekstrak air daun *C. siamea*, dan 5 tempat dengan variasi konsentrasi ekstrak N-heksana daun *C. siamea*. Prinsip randomisasi dilakukan dengan menyamakan probabilitas setiap kelompok larva (setiap 20 larva) untuk mendapat perlakuan di konsentrasi yang ditentukan. Prinsip kontrol dilakukan sama terhadap jumlah larva dan jumlah tempat. Larva yang mati diukur panjangnya untuk menentukan perubahan morfologi.

4.2 Populasi, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi sampel diambil dari tempat pembibitan larva nyamuk *Ae. aegypti* instar ketiga di Laboratorium Entomologi, Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

4.2.2 Besar Sampel

Besar sampel disesuaikan dengan jumlah tempat yang digunakan saat percobaan. Jumlah tempat yang digunakan setiap percobaan adalah 1 tempat kontrol air, 1 tempat dengan konsentrasi temephos, 1 tempat untuk kontrol 1% DMSO (dimetil sulfoksida) 5 tempat dengan konsentrasi ekstrak air daun *C. siamea*, dan 5 tempat konsentrasi ekstrak N-heksana daun *C. siamea*. Dengan demikian, besar sampel yang dibutuhkan tiap percobaan adalah 260 larva.

4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* (penarikan sampel acak sederhana). Hal ini memperhatikan sampel berupa larva yang dibibitkan memiliki umur sama. Dengan demikian dapat dipastikan sampel yang diambil memiliki sifat homogen dan mampu mewakili seluruh populasi.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

4.3.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Mortalitas larva
- Perubahan morfologi larva

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian ini tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil	Skala
1	Mortalitas Larva	Jumlah larva yang mati dan hampir mati selama inkubasi 96 jam. Larva mati dan hampir mati adalah larva yang tidak bergerak meskipun wadah digoyangkan dan diberikan paparan cahaya terang.	Teknik Observasi dan penghitungan kuantitatif	Makroskopis	Jumlah larva yang mati untuk menghitung LC50 dan LC90	Rasio
2	Perubahan morfologi larva	Perubahan bentuk luar larva setelah inkubasi 96 jam	Menghitung panjang larva	Penggaris	Ukuran panjang larva (mm)	Rasio

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dan ekstrak air daun *C. siamea* dari kerjasama dengan Dr. Wiwied Ekasari, M. Si, Apt. di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sekaligus sebagai konsultan. Pembuatan simplisia diawali dengan sortasi basah daun *C. siamea*, kemudian dicuci dengan air sampai bersih dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung untuk dijadikan simplisia. Setelah kering, daun disortir, dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan 40 derajat. Daun *C. siamea* dikumpulkan dari Tawangmangu, Jawa Tengah dan diidentifikasi oleh Anshari Maruzi dari Laboratorium Sistematika, dengan nomor spesimen voucher YK.01.03/2/2861/2019.

Pembuatan ekstrak air dilakukan dengan cara dekok. Proses dekok dilakukan dengan memanaskan 25 g simplisia dalam 250 ml akuades murni selama 30 menit

pada suhu 90°C menggunakan panci dekok. Setelahnya, hasil rebusan disaring dan dikeringkan dengan metode *freeze dry*.

Ekstrak N-heksana dibuat dengan memasukkan 20 g simplisia ke dalam 1000 ml N-heksana, kemudian dimasukkan ke dalam penangas air ultrasound selama 7 menit dengan frekuensi 40 kHz. Filtrat disaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada kecepatan 45 rpm dan suhu 40°C. Ekstrak dikeringkan pada suhu kamar tanpa sinar matahari langsung.

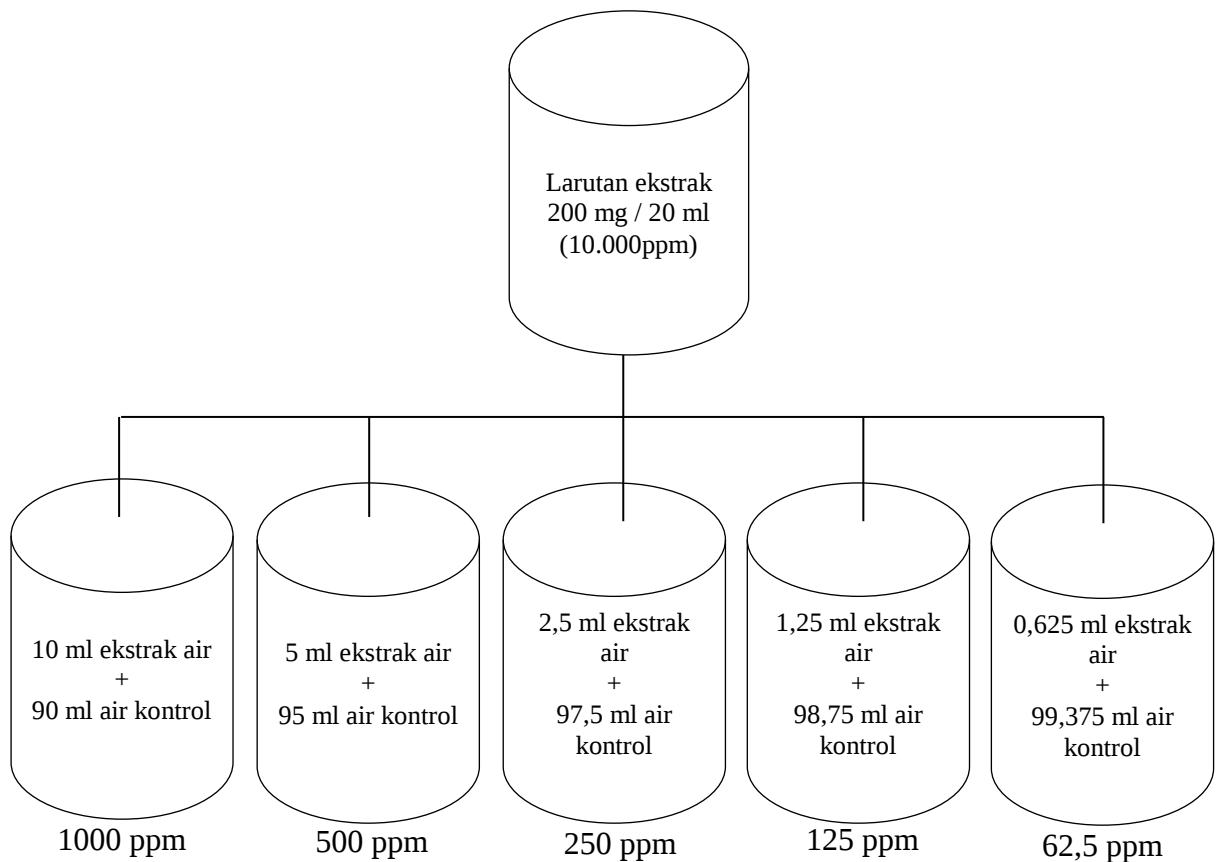
Hasil ekstraksi ekstrak air dan ekstrak N-heksana dilanjutkan dengan penapisan fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis. Fase diam yang digunakan adalah plat RP-18 untuk ekstrak air dan plat silica untuk ekstrak N-heksana, masing-masing berukuran 7 X 2 cm. Fase diam ekstrak air dicelupkan pada fase gerak acetonitril : metanol : air (1/2/3 v/v/v), sedangkan fase gerak untuk ekstrak N-heksana adalah N-heksana dan etil asetat (7/3 v/v). Setiap ekstrak diteteskan sebanyak 12 mikroliter pada masing-masing jenis fase diam sebanyak 4 plat. Reagen yang digunakan antara lain asam sulfat 10%, anisaldehyd sulfat, FeCl₃, dan Dragendorff.

Larva *Ae. aegypti* yang digunakan merupakan larva yang dibiakkan oleh Laboratorium Entomologi, Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

4.4.1 Konsentrasi Ekstrak Air dan Ekstrak N-heksana Daun *Cassia siamea*

Penentuan enam ragam konsentrasi yang digunakan pada ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* berdasarkan panduan WHO tahun 2005. Konsentrasi yang dipilih pada masing bahan, baik ekstrak air maupun ekstrak N-heksana ditentukan berdasarkan tabel pengenceran dan konsentrasi. Lima konsentrasi yang digunakan meliputi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 ppm. Pembuatan bahan uji menggunakan konsentrasi awal 1% (10.000 ppm) dengan cara 200 mg bahan uji dalam 20 ml pelarut, kemudian dilakukan pengenceran 10 kali. Konsentrasi final

dengan satuan ppm dibuat dalam 100 ml air bebas klorin (Kemenkes, 2018; WHO, 2005). Penghitungan konsentrasi final ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Konsentrasi Final Ekstrak Daun *C. siamea*.

Pembuatan konsentrasi final ekstrak air pada setiap satu hanya menggunakan pengenceran ekstrak air daun *C. siamea* dalam 100 ml air rendaman. Ekstrak N-heksana daun *C. siamea* memerlukan DMSO untuk dapat larut dalam air. Komposisi larutan stok N-heksana terdiri atas 200 mg ekstrak dalam 2 ml DMSO 100% dan 18 ml air. Setiap larutan stok sebanyak 20 ml akan menyisakan 0,625 ml.

4.4.2 Konsentrasi Kontrol

Kontrol air menggunakan 100 ml air rendaman PDAM untuk menghilangkan kandungan klorin. Kontrol 1 % DMSO disiapkan dengan melarutkan 1 ml DMSO 100% dalam 99 ml air bebas klorin. Persiapan larutan temephos sebagai kontrol

positif menggunakan konsentrasi 0,0001 ppm. Pembuatan larutan temephos 0.0001 ppm menggunakan Abate (BASF) yang mengandung 1% temephos, sehingga memerlukan 0.01 ppm Abate (BASF, 2018).

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan untuk pembuatan ekstrak antara lain neraca, gelas ukur, *rotavapor*, erlenmeyer, *ultrasound waterbath*, kertas saring, corong, corong buchner, penyedot vakum, labu, aluminium foil, dan wadah ekstrak.

Pelaksanaan uji larvasida dan perubahan morfologi menggunakan instrumen penggaris, jam, gelas beaker, gelas ukur, neraca ilmiah, pinset, kertas pH, pipet plastik, *smartphone* dengan kamera, gelas objek, pengaduk.

Uji kromatografi lapis tipis memerlukan instrumen plat silika, plat RP-18, *chamber*, penggaris, pemotong plat, pipet, *stopwatch*, penyemprot, gelas beker, pemanas elektrik, dan lampu UV.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1 Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Malaria dan Laboratorium Entomologi, Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

4.6.2 Waktu Penelitian

Penelitian yang dilakukan mulai dari tahap pembuatan proposal hingga publikasi akhir. Waktu yang dibutuhkan sejak Februari 2020 hingga Desember 2021.

4.7 Prosedur Pengambilan Data

Pengambilan data untuk penelitian ini dilakukan dengan cara berikut.

4.7.1 Uji Mortalitas Larva

Pengujian efek mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air dan N-heksana daun *C. siamea* dilakukan sesuai dengan rekomendasi WHO berdasarkan *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides* (No. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13). Prosedur uji dijelaskan sebagai berikut.

1. Mengunjungi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk mengambil ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*
2. Membawa ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* ke Laboratorium Entomologi dan Laboratorium Malaria, Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga beserta bahan dan alat yang diperlukan dalam penelitian
3. Menyiapkan larva yang akan digunakan dengan mempuaskan selama 24 jam sebelum pengujian terhadap ekstrak.
4. Memulai pengujian larva di Laboratorium Malaria.
5. Mengisi setiap gelas beaker sesuai dengan konsentrasi zat uji, yaitu 1 tempat kontrol negatif, 1 tempat kontrol temephos 0,0001 ppm, 1 tempat untuk DMSO 1%, 5 tempat dengan variasi konsentrasi ekstrak air daun *C. siamea*, dan 5 tempat dengan variasi konsentrasi ekstrak N-heksana daun *C. siamea*. Kemudian setiap tempat dihomogenkan.
6. Memberikan label pada setiap gelas beaker sesuai dengan konsentrasi dan jenis larutan yang diberikan pada tempat tersebut
7. Memasukan larva instar ketiga ke setiap gelas beaker. Jumlah larva tiap tempat 20 larva.
8. Mengukur pH setiap wadah.

9. Melakukan penghitungan jumlah larva yang mati dan hampir mati setiap 24 jam selama masa inkubasi 4 hari dengan cara memindahkan larva yang mati dan hampir mati di tempat berbeda yang sudah dilabeli berdasarkan waktu pengambilan.
10. Mengukur sampel panjang larva yang mati setiap waktu observasi menggunakan penggaris.
11. Setelah penghitungan mortalitas selama 4 hari selesai, melakukan analisis data.
12. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (WHO 2005)

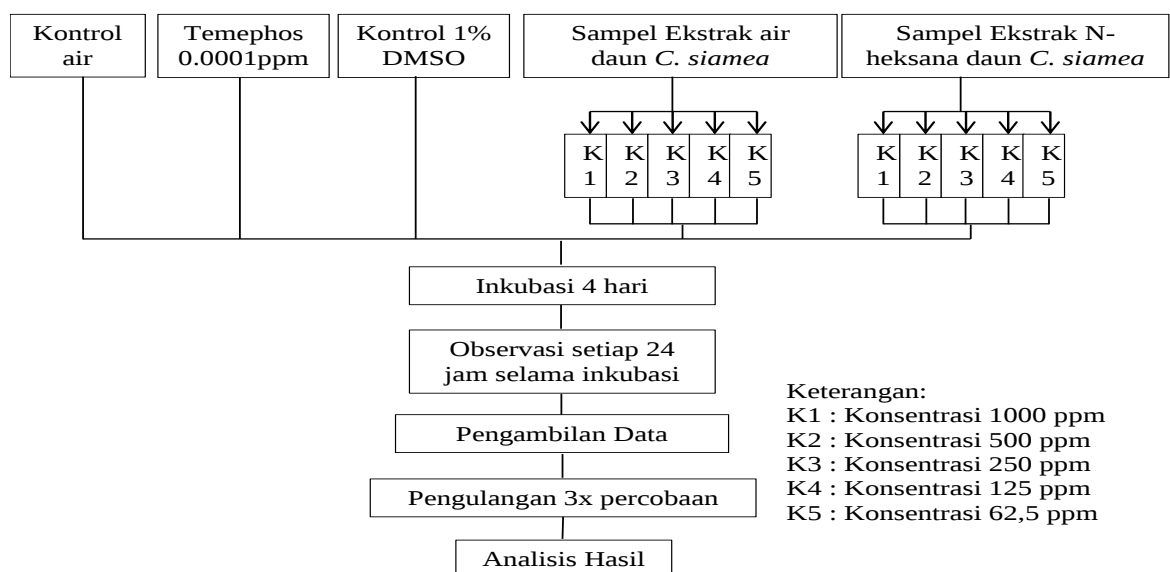
4.7.2 Pemeriksaan Morfologi

Pemeriksaan morfologi larva dilakukan dengan cara berikut.

1. Mengambil sampel larva pada setiap tempat.
2. Meletakan larva di gelas objek
3. Mengukur panjang larva menggunakan penggaris

4.8 Kerangka Operasional

Kerangka operasional penelitian ini tercantum pada gambar 4.2



Gambar 4.2 Kerangka Operasional

4.9 Pertimbangan Etik

Pertimbangan etik terkait pelaksanaan penelitian ini diorientasikan pada keamanan serta keselamatan peneliti dan lingkungan. Peneliti memperhatikan dan menaati setiap peraturan yang ada ketika melakukan penelitian. Penelitian didampingi pakar ilmu terkait, untuk memastikan pelaksanaan penelitian yang sesuai dengan prosedur operasi standar. Laboratorium yang digunakan merupakan *Biosafety Laboratory* (BSL) level 2. Prinsip penelitian ini mengutamakan upaya ramah lingkungan. Penelitian ini telah mendapat ijin kelaikan etik penelitian oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unair dengan nomor 222/EC/KEPK/FKUA/2021.

4.10 Cara Mengolah dan Menganalisis Data

Data yang diperoleh berupa jumlah mortalitas larva dan sediaan larva yang diamati untuk menilai perubahan morfologi larva. Dengan demikian, kedua data tersebut diolah dengan cara berbeda seperti yang dijelaskan berikut.

4.10.1 Data Mortalitas Larva

Metode analisis data tentang jumlah mortalitas larva dilakukan dengan cara berikut.

1. Membuat tabulasi Excel dan pengkodean (*coding*)
2. Entri Data
3. Menentukan LC50 dan LC90 dari garis regresi mortalitas dosis log probit
4. Melakukan analisa statistik

Analisis bivariat menggunakan *Chi square* untuk melihat adanya hubungan perbedaan tingkat mortalitas larva antara pemberian konsentrasi ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*.

5. Interpretasi hasil

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 26.

Serangkaian uji dinyatakan valid jika simpangan baku relatif (atau koefisien variasi) kurang dari 25% atau jika batas kepercayaan LC50 tumpang tindih (tingkat signifikan pada $P < 0,05$). Potensi bahan kimia terhadap larva vektor dan strain tertentu kemudian dapat dibandingkan dengan nilai LC50 atau LC90 dari insektisida lain.

4.10.2 Data Perubahan Morfologi

Metode analisi data tentang perubahan morfologi larva dilakukan dengan cara berikut.

1. Membuat tabulasi Excel dan pengkodean (*coding*)
2. Entri Data
3. Interpretasi hasil

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan deskripsi berdasarkan hasil pengukuran panjang larva.

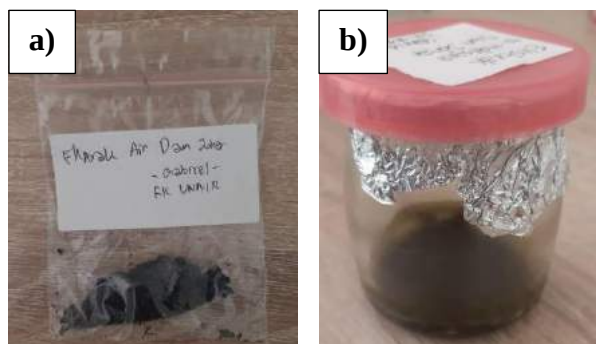
BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dimulai pada bulan April 2021 di Laboratorium Fitofarmaka, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Simplisia daun *C. siamea* didapat dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah. Proses pembuatan ekstrak air menggunakan metode dekok, sedangkan ekstrak N-heksana dibuat dengan metode *ultrasound assisted extraction*. Hasil pembuatan ekstrak air dikeringkan dengan *freeze dry*. Pengeringan ekstrak N-heksana dilakukan dengan alat rotavapor. Hasil akhir ekstraksi ditampilkan pada Gambar 5.1.

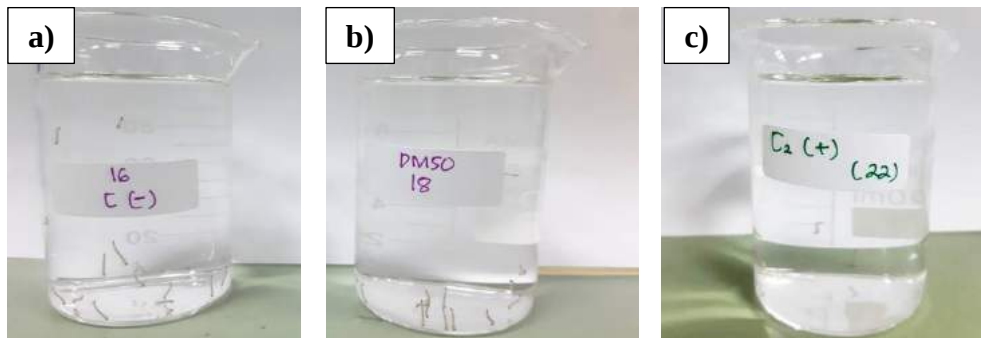


Sumber gambar:
Dokumentasi Pribadi

Gambar 5.1 Hasil ekstraksi daun *C. siamea*: a) ekstrak air dan b) ekstrak N-heksana

5.1.2 Uji Efek Mortalitas pada Larva *Ae. aegypti*

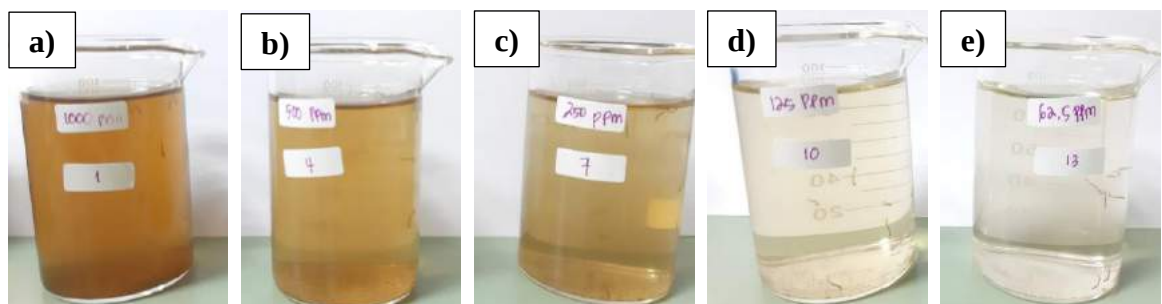
Uji efek letal ekstrak daun *C. siamea* dilakukan 3 replikasi untuk setiap jenis ekstrak disertai penggunaan kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif menggunakan air rendaman PDAM dan larutan DMSO 1%, sedangkan kontrol positif menggunakan temefos 0,0001 ppm. Hasil pembuatan larutan kontrol terdapat pada gambar 5.2.



Sumber gambar:
Dokumentasi Pribadi

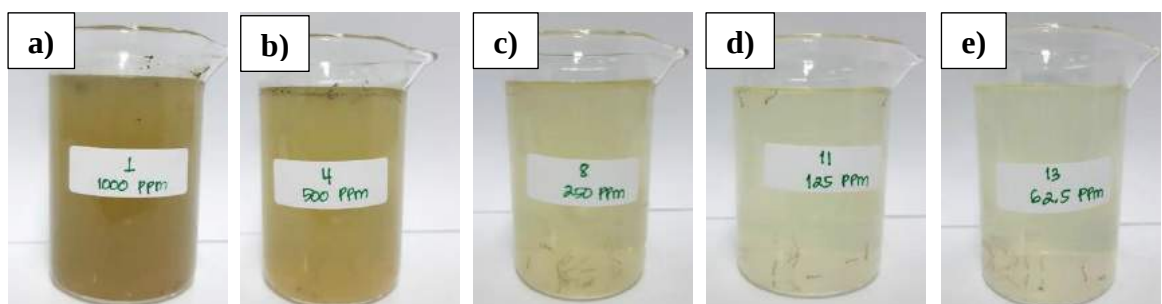
Gambar 5.2 Larutan kontrol pengujian efek mortalitas, a) air rendaman PDAM, b) larutan DMSO 1%, dan c) larutan temefos 0,0001 ppm.

Pengujian efek larvasida menggunakan 5 konsentrasi yang berbeda-beda, yakni 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 ppm. Larutan stok ekstrak air dilarutkan hanya dengan air rendaman PDAM, sedangkan larutan stok ekstrak N-heksana dilarutkan dengan DMSO serta air rendaman PDAM. Pembuatan konsentrasi final disesuaikan dalam 100 ml volume total pada setiap wadah. Wadah dengan larutan ekstrak daun *C. siamea* dapat dilihat pada Gambar 5.3 dan 5.4. Kedua jenis ekstrak menunjukkan adanya penurunan warna pekat seiring dengan pengurangan konsentrasi final.



Gambar 5.3 Larva *Ae. aegypti* di dalam ekstrak air daun *C. siamea* dengan konsentrasi a) 1000; b) 500; c) 250; d) 125; dan e) 62,5 ppm

Sumber gambar: Dokumentasi Pribadi



Gambar 5.4 Larva *Ae. aegypti* di dalam ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan konsentrasi a) 1000; b) 500; c) 250; d) 125; dan e) 62,5 ppm.

Sumber gambar: Dokumentasi Pribadi

Pengujian efek larvasida ekstrak diawali dengan pengukuran pH pada masing-masing wadah (Tabel 5.1). Seluruh larutan ekstrak maupun kontrol memiliki pH asam hingga normal. Penggunaan 1% DMSO menunjukan pH yang lebih asam. Hal yang sama juga dijumpai pada ekstrak N-heksana. Hasil pengukuran pH kontrol air dan temefos menunjukan nilai yang sama.

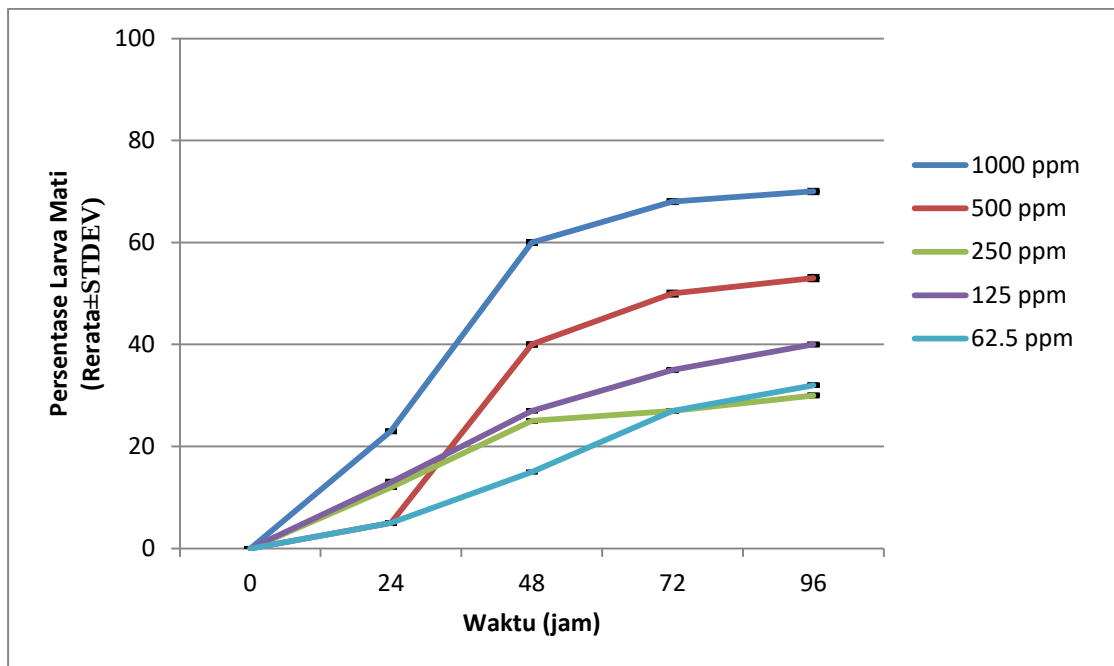
Tabel 5.1 pH larutan ekstrak daun *C. siamea* pada setiap konsentrasi dan kontrol.

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	pH	
	Rerata	STDEV
Ekstrak Air		
1000	6.8	0
500	6.9	0.173205
250	6.8	0
125	7.0	0.173205
62.5	6.9	0.173205
Ekstrak N-heksana		
1000	6.5	0
500	6.5	0
250	6.5	0
125	6.5	0
62.5	6.5	0
Kontrol		
Air	6.9	0.173205
DMSO 1%	6.5	0
Temefos	6.9	0.173205

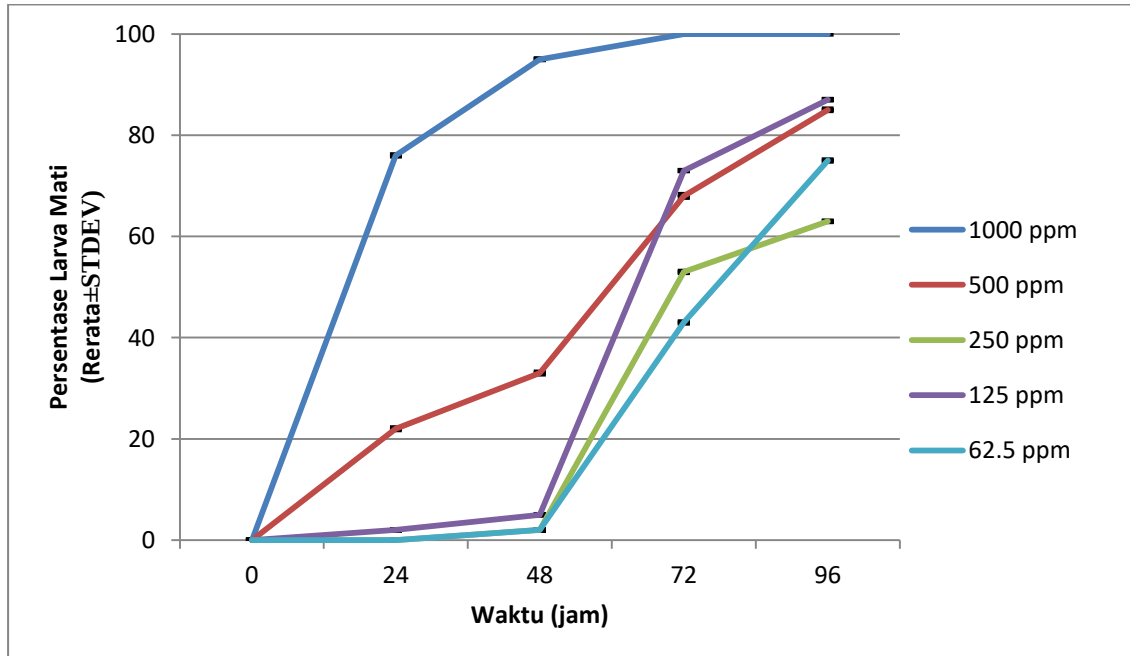
*STDEV: Standard Deviasi

Ekstrak air (Gambar 5.5) dan ekstrak N-heksana (Gambar 5.6) daun *C. siamea* menunjukan khasiat larvasida berupa peningkatan persentase larva yang mati setiap 24 jam. Ekstrak N-heksana dengan konsentrasi 1000 ppm memiliki efek larvasida paling besar. Pada 24 jam pertama, konsentrasi tersebut mampu membunuh 76% larva *Ae. aegypti*. Baik ekstrak air maupun ekstrak N-heksana menunjukan trend yang sama, yaitu berupa peningkatan larva yang mati seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Pengujian larvasida menunjukan efek letal ekstrak daun *C. siamea* yang lebih besar dibanding kontrol. Pada larutan kontrol (Gambar 5.7),

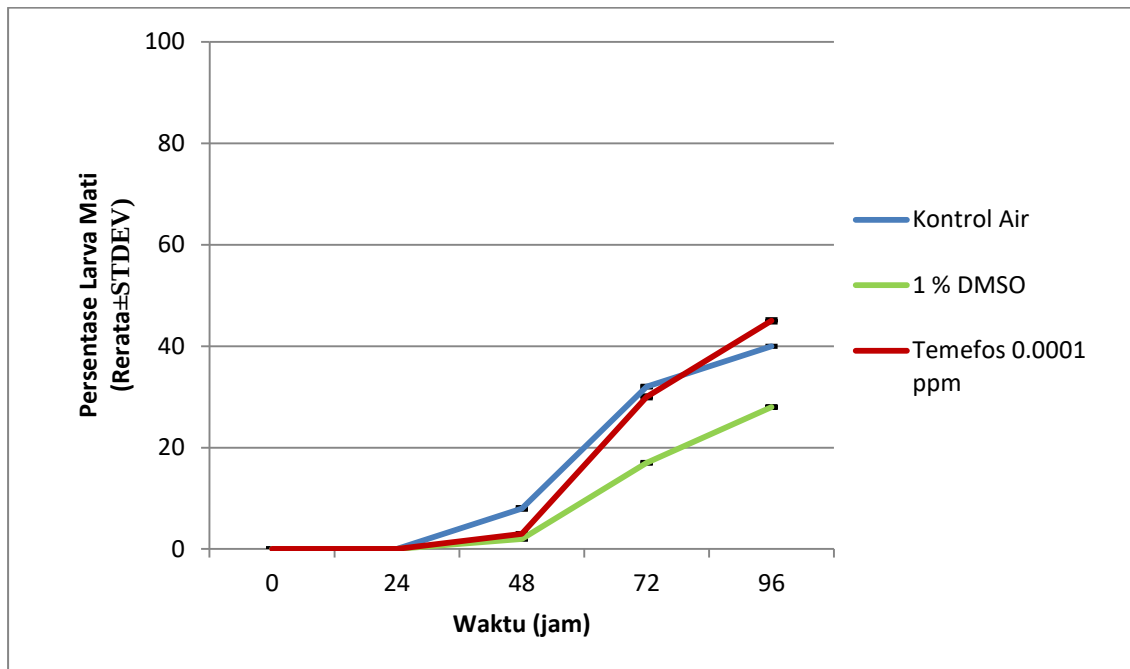
penggunaan DMSO 1% menunjukkan kematian yang paling rendah. Efek letal temefos 0.0001 ppm lebih besar pada jam ke-96 dibandingkan kontrol air maupun DMSO 1%.



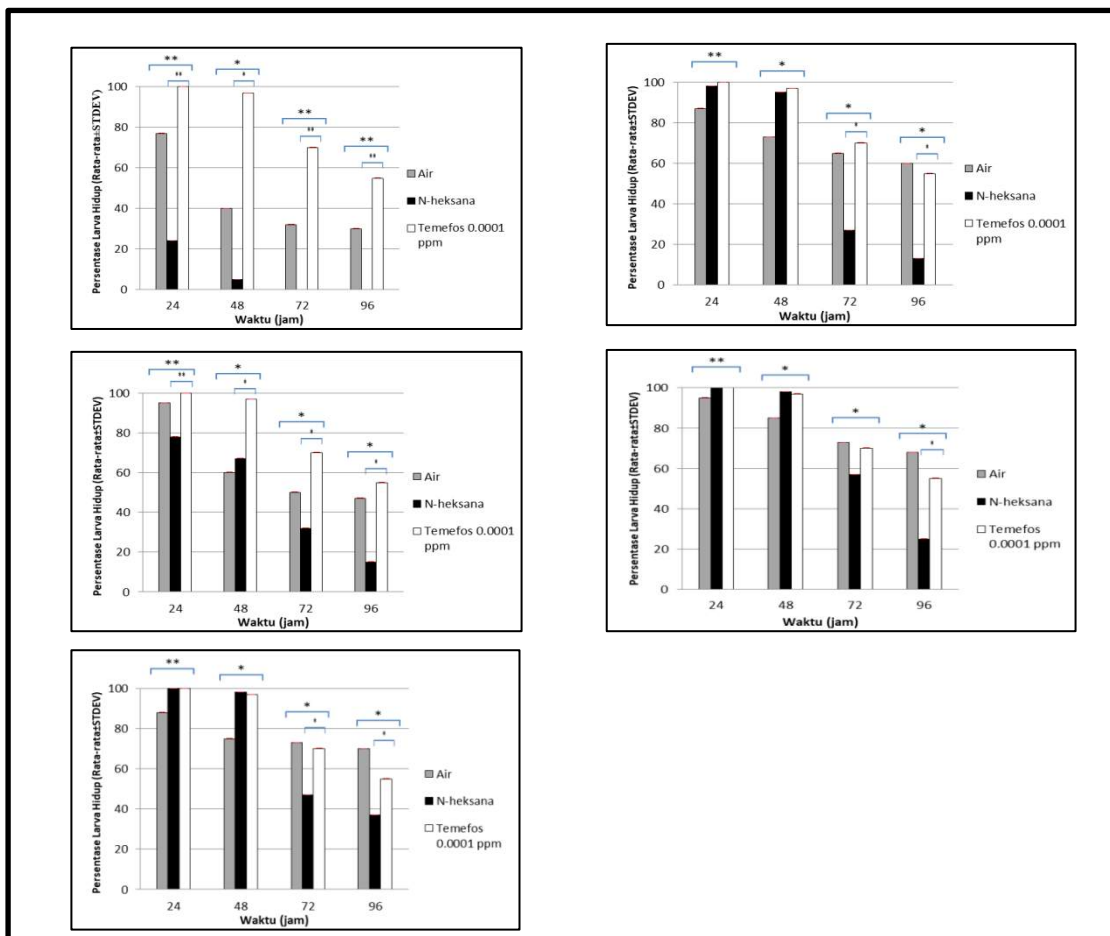
Gambar 5.5 Larva *Ae. aegypti* yang mati dalam ekstrak air daun *C. siamea* pada jam ke 0, 24, 48, 72, dan 96.



Gambar 5.6 Larva *Ae. aegypti* yang mati dalam ekstrak N-heksana daun *C. siamea* pada jam ke 0, 24, 48, 72, dan 96.



Gambar 5.7 Larva *Ae. aegypti* yang mati dalam kontrol air, DMSO 1%, dan temefos 0.0001 ppm pada jam ke 0, 24, 48, 72, dan 96.



Gambar 5.8 Larva *Ae. aegypti* di dalam ekstrak daun *C. siamea* pada konsentrasi A) 1000, B) 500, C) 250, D) 125, dan E) 62.5 ppm serta kontrol temefos 0.0001 ppm. * $p < 0.05$, Chi-square test, ** $p < 0.05$, Fisher's Exact test.

Aktivitas larvasida pada ekstrak *C. siamea* memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan temefos 0.0001 ppm. Perbandingan efek larvasida tersebut ditentukan dari besarnya efek letal yang dihasilkan oleh ekstrak air, ekstrak N-heksana, maupun temefos pada setiap waktu pengamatan 24 jam. Perbedaan signifikan juga terlihat di antara ketiga jenis larutan tersebut (Gambar 5.8). Besarnya signifikansi ditentukan menggunakan *Chi-square* maupun *Fisher's Exact*.

Ekstrak N-heksana menunjukkan efek larvasida yang lebih baik dibanding ekstrak air maupun temefos. Ketiga kelompok menunjukkan perbedaan signifikan. Kemampuan ekstrak N-heksana pada konsentrasi rendah menunjukkan mekanisme kerja yang lebih lambat dibanding kedua kelompok yang lain, namun pada pengamatan ke-72 dan ke-96, efek letal yang dihasilkan lebih baik dibanding ekstrak air dan temefos.

Meskipun efek mortalitas ekstrak daun *C. siamea* menunjukkan hasil yang baik, namun demikian penggunaan pelarut air mungkin perlu dilakukan telaah lebih lanjut. Kelompok yang diberikan ekstrak air menunjukkan perkembangan larva menjadi pupa dan nyamuk. Walaupun juga memiliki efek mortalitas, namun perkembangan pupa ini dapat berpotensi menyebabkan resistensi yang lebih cepat pada nyamuk yang telah berhasil mencegah efek letal setelah diberikan ekstrak air.

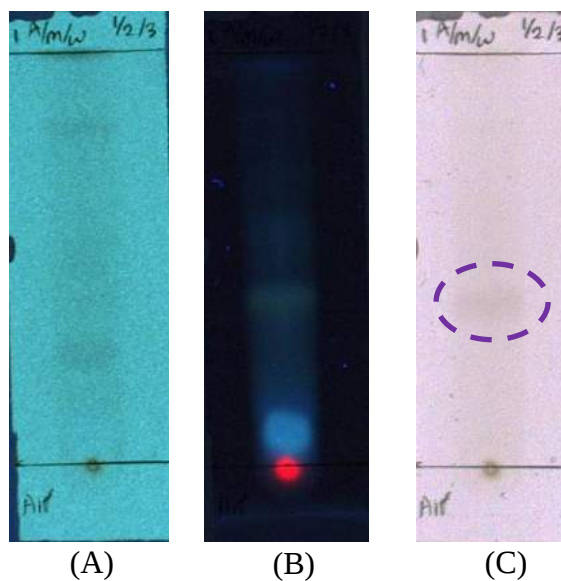
Uji mortalitas larva juga mendapatkan hasil perkembangan pupa maupun nyamuk (Tabel 5.2). Perkembangan larva *Ae. aegypti* menjadi pupa maupun nyamuk hanya ditemui pada kelompok yang diberikan ekstrak air daun *C. siamea*. Produksi pupa terbanyak terjadi pada pengamatan ke-48 jam (10 pupa) dan ke-96 (7 pupa), sedangkan nyamuk hanya ditemukan pada pengamatan ke-72 jam. Konsentrasi 1000 ppm merupakan kelompok dengan pupa terbanyak, yaitu 8 pupa.

Tabel 5.2 Perkembangan pupa dan nyamuk *Ae. aegypti* pada jam ke 24, 48, 72, dan 96

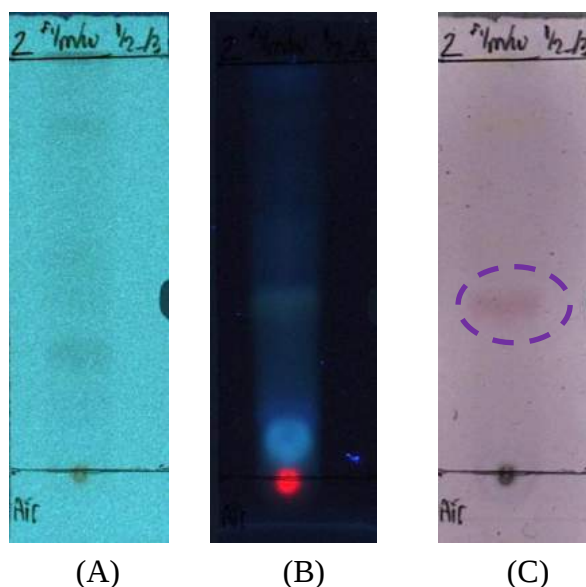
Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Jumlah Larva	24 jam		48 jam		72 jam		96 jam		Total	
		P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
Ekstrak air											
1000	60	1	0	2	0	1	1	4	0	8	1
500	60	1	0	3	0	0	1	0	0	4	1
250	60	3	0	2	0	0	3	2	0	7	3
125	60	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0
62.5	60	0	0	2	0	1	0	0	0	3	0
Ekstrak N-heksana											
1000	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
250	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
125	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
62.5	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol											
Air	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1% DMSO	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Temefos (0.0001 ppm)	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*P: pupa, N: nyamuk, *DMSO: dimetil sufoksida

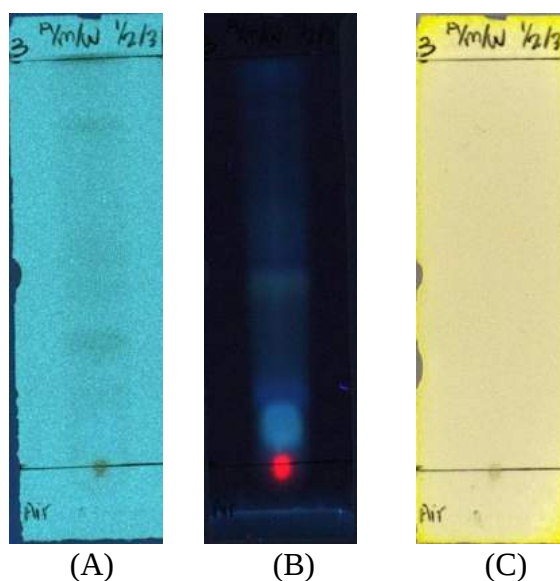
Pengujian efek mortalitas dilanjutkan dengan identifikasi senyawa metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak. Identifikasi senyawa menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak air menunjukkan spot berwarna ungu (Gambar 5.9 dan 5.10). Pengujian menggunakan FeCl_3 dan Dragendorff tidak menunjukkan perubahan warna (gambar 5.11 dan 5.12). Ekstrak N-heksana tampak mempunyai spot berwarna ungu pada pengujian dengan asam sulfat 10% maupun anisaldehydsulfat (Gambar 5.13 dan 5.14). Penggunaan reagen FeCl_3 menampilkan perubahan warna menjadi keabu-abuan pada plat ekstrak N-heksana (Gambar 5.15). Reagen Dragendorff tidak menunjukkan perubahan warna pada ekstrak N-heksana (Gambar 5.16). Adanya identifikasi positif pada uji dengan reagen FeCl_3 , dilanjutkan dengan uji tambahan menggunakan sitrat borat. Hasil uji ini tidak ditemukan adanya identifikasi positif (Gambar 5.17).



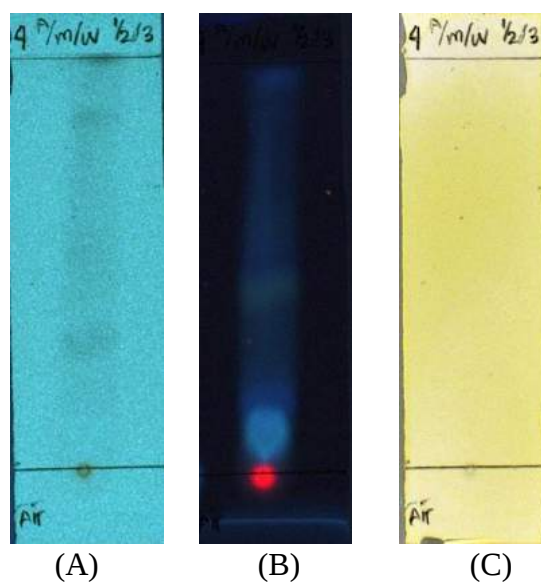
Gambar 5.9 Profil KLT ekstrak air daun *C. siamea* dengan fase diam RP-18 dan dieluasi dengan fase gerak asetonitril : metanol : air (1/2/3 v/v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan H₂SO₄ 10% dan dipanaskan 105°C selama 5 menit.



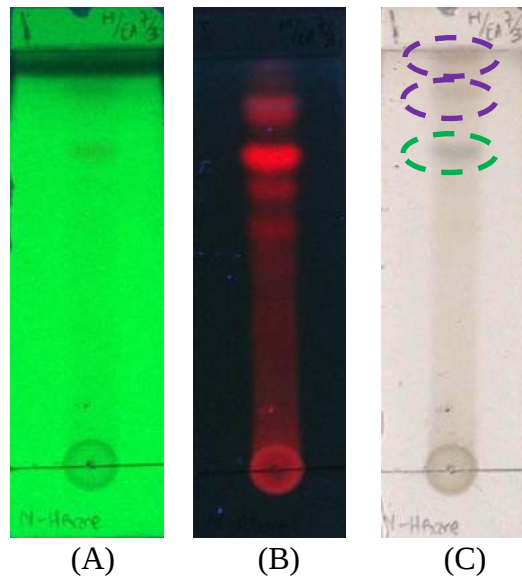
Gambar 5.10 Profil KLT ekstrak air daun *C. siamea* dengan fase diam RP-18 dan dieluasi dengan fase gerak asetonitril : metanol : air (1/2/3 v/v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, dan (C) setelah disemprot dengan Anisaldehyd sulfat 10% dan dipanaskan 105°C selama 5 menit



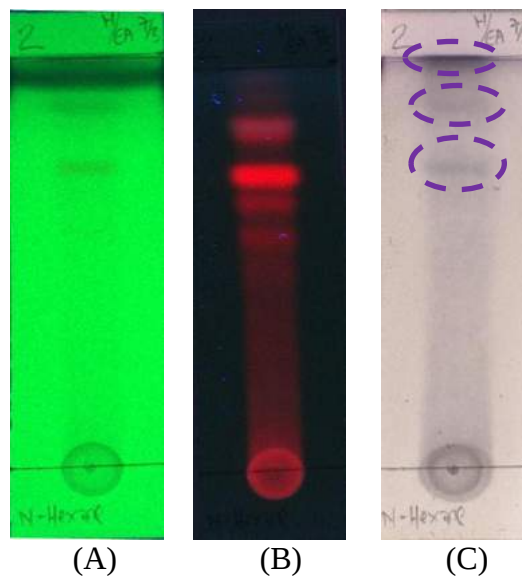
Gambar 5.11 Profil KLT ekstrak air daun *C. siamea* dengan fase diam RP-18 dan dieluasi dengan fase gerak asetonitril : metanol : air (1/2/3 v/v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, dan (C) setelah disemprot dengan FeCl_3 .



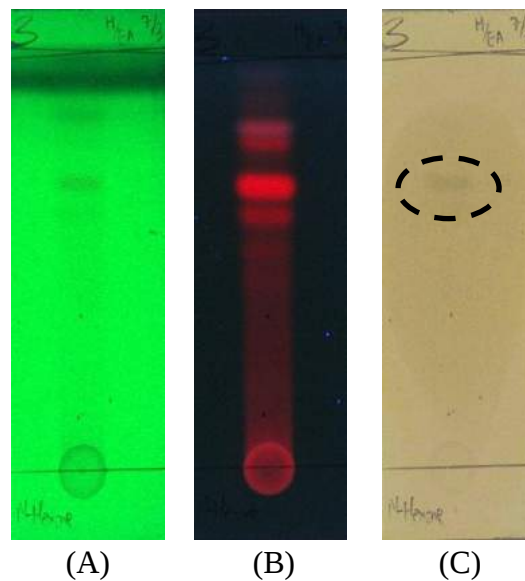
Gambar 5.12 Profil KLT ekstrak air daun *C. siamea* dengan fase diam RP-18 dan dieluasi dengan fase gerak asetonitril : metanol : air (1/2/3 v/v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, dan (C) setelah disemprot dengan Dragendorff.



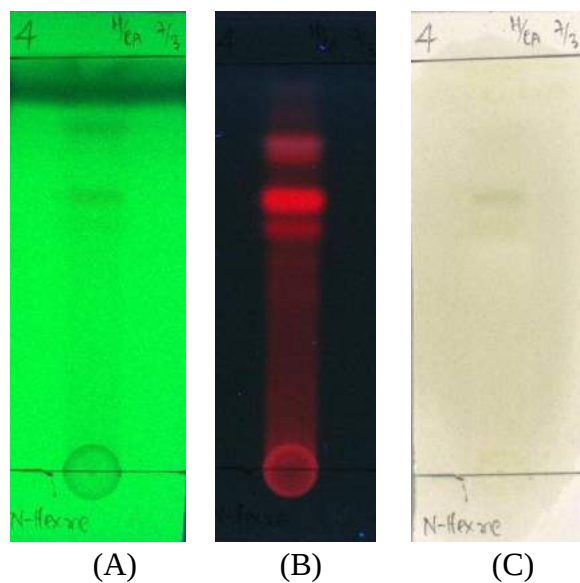
Gambar 5.13 Profil KLT ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan fase diam silika gel GF254 dan dieluasi dengan fase gerak N-heksana : etil asetat (7/3 v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan H_2SO_4 10% dan dipanaskan 105°C selama 5 menit.



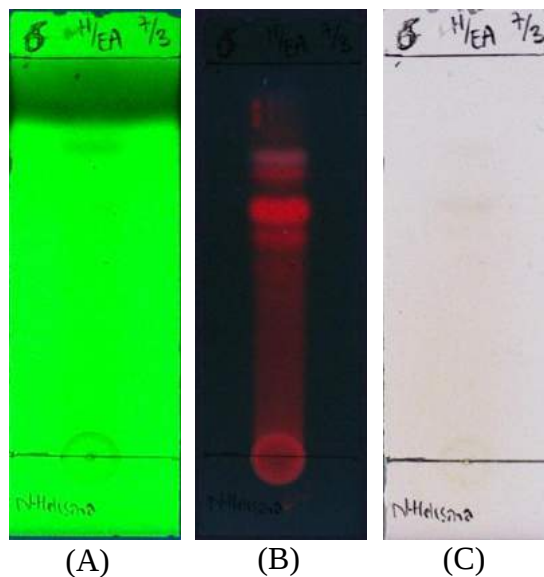
Gambar 5.14 Profil KLT ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan fase diam silika gel GF254 dan dieluasi dengan fase gerak N-heksana : etil asetat (7/3 v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan Anisaldehyd sulfat 10% dan dipanaskan 105°C selama 5 menit.



Gambar 5.15 Profil KLT ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan fase diam silika gel GF254 dan dieluasi dengan fase gerak N-heksana : etil asetat (7/3 v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan FeCl_3



Gambar 5.16 Profil KLT ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan fase diam silika gel GF254 dan dieluasi dengan fase gerak N-heksana : etil asetat (7/3 v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan Dragendorff



Gambar 5.17 Profil KLT ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan fase diam silika gel GF254 dan dieluasi dengan fase gerak N-heksana : etil asetat (7/3 v/v) yang diamati di bawah lampu (A) UV 254 nm, (B) UV 365 nm, (C) setelah disemprot dengan Sitrat Borat

Spot warna ungu pada uji menggunakan asam sulfat 10% dan anisaldehyd sulfat menunjukkan adanya kandungan terpenoid. Tidak adanya perubahan warna pada lajur eluasi ketika disemprot menggunakan FeCl_3 maupun reagen Dragendorff berturut-turut menunjukkan tidak adanya kandungan polifenol maupun alkaloid. Ekstrak N-heksana daun *C. siamea* menunjukkan perubahan warna ketika disemprot dengan asam sulfat 10%, anisaldehyd sulfat, dan FeCl_3 , sehingga terbukti mengandung terpenoid dan polifenol. Spot bewarna hijau menunjukkan kandungan klorofil. Penggunaan reagen Dragendorff tidak menyebabkan perubahan warna, sehingga tidak dijumpai kandungan alkaloid di dalam ekstrak N-heksana. Pada reagen asam sulfat 10%, steroid diidentifikasi dengan warna hijau kebiruan (Arnida, Sutomo, dan Khoriah, 2018). Pada kedua ekstrak ini tidak didapati warna tersebut, sehingga tidak mengandung steroid. Uji menggunakan sitrat borat untuk mengidentifikasi jenis polifenol berupa flavonoid tidak didapatkan hasil positif. Hasil identifikasi senyawa ditampilkan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Kandungan senyawa metabolit pada ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*

Senyawa Metabolit	Ekstrak air	Ekstrak N-heksana
Terpenoid	+	+
Steroid	-	-
Polifenol	-	+
Tanin	-	-
Alkaloid	-	-
Flavonoid	-	-

*+ : ada, -: tidak ada

5.1.3 Uji Perubahan Morfologi Larva

Perubahan morfologi larva menggunakan indikator perbedaan panjang larva yang mati setiap 24 jam. Pengukuran panjang dilakukan terhadap kelompok ekstrak air, ekstrak N-heksana, kontrol air, kontrol DMSO 1% dan kontrol temefos. Panjang larva yang mati di 3 replikasi ditampilkan pada Tabel 5.4. Pertumbuhan larva pada kelompok yang diberikan ekstrak N-heksana memiliki panjang paling pendek dibanding kelompok yang lain, pada setiap waktu pengamatan, sedangkan kelompok yang diberikan ekstrak air mempunyai morfologi yang lebih panjang.

Tabel 5.4 Panjang Larva *Ae. aegypti* di dalam ekstrak air dan N-heksana daun *C. siamea*, kontrol air, DMSO 1%, dan temefos 0.0001 ppm.

Jenis Larutan	Panjang Larva (mm)							
	24 jam		48 jam		72 jam		96 jam	
	Rerata	STDEV	Rerata	STDEV	Rerata	STDEV	Rerata	STDEV
Ekstrak air <i>C. siamea</i>	5,63	0,5	6,11	0,78	6,33	0,66	6,13	0,64
Ekstrak N-heksana <i>C. siamea</i>	5,8	0,45	5,5	0,53	6,0	0,43	5,3	0,49
Kontrol air	-	-	5,7	0,58	6,0	0	6	0
Kontrol DMSO 1%	-	-	5,7	0,58	6,0	-	6	0
Kontrol temefos 0.0001 ppm	-	-	5,7	0,58	6,0	0	5,7	0,58

*STDEV: Standard deviasi

5.2 Analisis Penelitian

5.2.1 Uji Efek Mortalitas

Hasil kematian larva pada pengamatan jam ke 24 dan 48 digunakan untuk menentukan LC50 dan LC90 pada masing-masing ekstrak (berturut-turut Tabel 5.5

dan 5.6). Ekstrak N-heksana memiliki nilai LC yang lebih rendah dibandingkan ekstrak air pada jam ke-24 maupun ke-48. Pada jam ke-24, LC50 ekstrak N-heksana 2,9 kali lebih efisien dibanding ekstrak air (778 vs 2286 ppm), sedangkan nilai LC90 3,7 kali lebih efisien dibanding ekstrak air (1136 vs 4280 ppm). Pengamatan ke-48 jam menunjukkan LC50 maupun LC90 yang lebih rendah dibanding pengamatan sebelumnya. Selisih perbedaan nilai LC50 maupun LC90 antara ekstrak N-heksana dengan air juga berkurang. Pada 48 jam, LC50 ekstrak N-heksana lebih efisien 1,3 kali (611 vs 765) dan LC90 lebih efisien 2,0 kali (921 vs 1817) dibanding ekstrak air.

Tabel 5.5 LC50 dan LC90 ekstrak air dan N-heksana daun *C. siamea* terhadap larva *Ae. aegypti* pada 24 jam.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Jumlah Larva		Mortalitas (%)	LC50 (95%CI)	LC90 (95%CI)	X^2
	Total	Mati				DF
P						
Air						
1000	60	14	23%	2286 (1445-9476)	4280 (2570-19252)	$X^2 = 6.4$ D.F.= 3 $P = 0.094$
500	60	3	5%			
250	60	7	12%			
125	60	8	13%			
62.5	60	3	5%			
N-heksana						
1000	60	46	77%	778 (712-854)	1136 (1036-1276)	$X^2 = 3.98$ D.F.= 3 $P = 0.264$
500	60	13	22%			
250	60	0	0%			
125	60	1	2%			
62.5	60	0	0%			

*CI: Confidence Interval, DF: Degree of Freedom

Tabel 5.6 LC50 dan LC90 ekstrak air dan N-heksana daun *C. siamea* terhadap larva *Ae. aegypti* pada 48 jam.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Jumlah Larva		Mortalitas (%)	LC50 (95%CI)	LC90 (95%CI)	X^2 DF <i>P value</i>
	Total	Mati				
Air						
1000	60	36	60%	765 (620-1 013)	1817 (1432-2618)	X^2 =1.9 D.F.=3 <i>P</i> =0.585
500	60	24	40%			
250	60	15	25%			
125	60	16	27%			
62.5	60	9	15%			
N-heksana						
1000	60	57	95%	611 (555-677)	921 (835-1040)	X^2 =4.77 D.F.=3 <i>P</i> =0.190
500	60	20	33%			
250	60	1	2%			
125	60	3	5%			
62.5	60	1	2%			

*CI: Confidence Interval, DF: Degree of Freedom

5.2.2 Uji Perubahan Morfologi

Pemberian ekstrak air maupun N-heksana daun *C. siamea* tidak mempengaruhi morfologi pada larva *Ae. aegypti* secara signifikan. Namun demikian, terdapat perbedaan trend pertumbuhan pada pemberian ekstrak yang berbeda.

Larva yang diberikan ekstrak air daun *C. siamea* tampak lebih panjang dibanding dengan kontrol sejak pengamatan 24 jam pertama. Bahkan pada pengamatan jam ke-72 hingga ke-96, panjang larva berturut-turut mencapai 6,11; 6,33; dan 6,31 cm. Ukuran tersebut lebih panjang dibandingkan kelompok kontrol. Kondisi tersebut melemahkan pemilihan ekstrak air sebagai larvasida baru. Perkembangan pupa dan nyamuk juga dapat disebabkan oleh adanya pertumbuhan yang lebih baik.

Penggunaan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* menjadi tampak lebih efektif karena kemampuannya untuk mencegah pertumbuhan larva. Hal ini dibuktikan dengan ukuran panjang larva yang pendek dibandingkan kelompok kontrol maupun ekstrak air. Pengaruh ekstrak N-heksana pada jam ke-96 menunjukkan ukuran panjang paling pendek, yaitu 5,3 cm. Pengaruh ekstrak N-heksana mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun *C. siamea* yang turut larut dalam ekstraksi. Kandungan gizi bagi larva yang umumnya terkandung dalam tanaman mungkin tidak terlalu besar dibandingkan dengan kemampuan senyawa metabolit sekunder dalam menyebabkan efek letal pada larva *Ae. aegypti*.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Uji Efek Mortalitas

Kadar pH larutan berpengaruh pada kelangsungan hidup larva *Ae. aegypti*. Pada penelitian ini, seluruh media mempunyai pH 6,5 hingga 7,0. Hidayat, Santoso, dan Suwasono (1997) menyatakan bahwa larva *Ae. aegypti* dapat bertumbuh dengan baik pada pH 5,8 hingga 8,6. Kondisi pH yang terlalu asam (≤ 3) maupun terlalu basa (≥ 12) dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan larva. Hijjahrawati, Ariyadi, dan Iswara (2018) menyatakan bahwa pH 5 sudah dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan dan kematian pada larva. Dengan demikian, larutan ekstrak air maupun ekstrak N-heksana berpotensi memiliki senyawa aktif yang dapat membunuh larva, karena pH larutan ekstrak tersebut masih tergolong aman untuk larva.

Penelitian ini merupakan penelitian pertama mengenai efek larvasida daun *C. siamea* asal Indonesia dengan ekstrak N-heksana terhadap larva *Ae. aegypti*. Dua tanaman, daun *Acalypha indica* (Teklani dan Perera, 2017) dan daun *Artocarpus blancoi* (Pineda-Cortel *et al*, 2019), berturut-turut diekstraksi dengan N-heksana dan difraksinasi dengan N-heksana, mempunyai efek letak pada larva *Ae. aegypti*. Ekstrak heksana daun *Acalypha indica* menggunakan metode sonikasi dengan konsentrasi 54 mg/ml (setara dengan 54000 ppm) menghasilkan 25% kematian larva *Ae. aegypti* dalam waktu 24 jam (Teklani dan Perera, 2017), sedangkan ekstrak N-heksana *C. siamea* dalam penelitian ini, dengan konsentrasi 778 ppm mampu membunuh 50% larva. Fraksi N-heksana daun *Artocarpus blancoi* memiliki LC50 sebesar 685 ppm terhadap *Ae. aegypti* setelah 48 jam paparan (Pineda-Cortel *et al*, 2019). Nilai LC50 ini lebih besar dibandingkan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* dengan nilai LC50 sebesar 611 ppm. Ekstrak N-heksana daun *C. siamea* memiliki

sifat larvasida yang lebih baik dibandingkan dengan daun *Acalypha indica* dan *Artocarpus blancoi*.

Tidak ada perkembangan pupa *Ae.aegypti* dalam ekstrak N-heksana daun *C. siamea*. Ekstrak N-heksana dapat mengandung jumlah protein yang relatif rendah. Van Schoor *et al* (2020) mengamati bahwa perkembangan pupa *Ae .aegypti* membutuhkan asupan protein dan karbohidrat yang cukup (Van Schoor, 2020). Kekurangan protein dalam ekstrak N-heksana *C. siamea* dan hambatan absorpsi pada larva *Ae. aegypti* dapat menghambat perkembangan pupa.

Efek larvasida *C. siamea* terhadap larva *Ae aegypti* juga ditunjukkan oleh ekstrak air. Pavananundt *et al* (2013) mempelajari ekstrak kasar *C. siamea* pada *Ae. aegypti* instar keempat, sedangkan penelitian ini menerapkan ekstrak air dengan metode dekok terhadap instar ketiga *Ae. aegypti*. Efektivitas ekstrak yang diuji oleh Pavananundt *et al* menunjukkan potensi yang lebih tinggi dengan LC50 dan LC90 dalam 24 jam pertama, masing-masing 419,65 vs 2286 ppm dan 741,84 vs 4280 ppm. Namun, ekstrak air yang kami gunakan memiliki efektivitas yang lebih tinggi daripada sampel dari Sulawesi Tengah, Indonesia yang melaporkan LC50 sebesar 3598,348 ppm (Khairunisa, Umar, dan Rupawan, 2017). Kondisi geografis sumber tanaman berpengaruh terhadap kadar metabolit (Ekasari *et al*, 2020; Hossain *et al*, 2014) dan metode ekstraksi yang berbeda (Nicoletti *et al*, 2012; Teklani dan Perera, 2017) juga mempengaruhi kadar metabolit, yang dapat menyebabkan perbedaan efektivitas ekstrak *C.siamea*.

Metode dekok pada pembuatan ekstrak air merupakan inovasi baru dalam mengolah ekstrak dari bahan daun. Dekok umumnya digunakan untuk bahan keras seperti batang maupun akar (Aznam dkk., 2012). Adrianto, Vifta, dan Dyahariesti (2020) menyampaikan bahwa kandungan flavonoid, tanin, dan saponin merupakan

senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Proses pembuatan ekstrak air daun *C. siamea* mungkin menyebabkan hilangnya senyawa seperti flavonoid, tanin, dan saponin.

Jiraungkoorskul K *et al* (2015) menemukan bahwa ekstrak kasar daun *C. siamea* memiliki efek larvasida terhadap larva instar keempat *Culex quinquefasciatus*. Jika dibandingkan dengan ekstrak air daun *C. siamea* terhadap *Ae. aegypti*, efikasi ekstrak air penelitian kami lebih rendah dibandingkan ekstrak kasarnya terhadap *C. quinquefasciatus* dalam 24 jam dengan LC50 dan LC90; 2286 ppm vs 394,29 ppm dan 4280 ppm vs 782,64 ppm. Tampaknya kerentanan jentik nyamuk terhadap larvasida berbeda di antara jentik spesies nyamuk. Spesies nyamuk dapat mempengaruhi efektivitas larvasida karena terdapat perbedaan kerentanan antar spesies. (Thongwat *et al*, 2018; Wasilah, 2019)

Efek mematikan pada larva kemungkinan karena adanya metabolit sekunder dalam ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea*. Ekstrak air dan N-heksana pada penelitian ini mengandung terpenoid. Senyawa ini dapat bersinergi dengan alkaloid dan menghambat mitosis sel larva (Sogandi dan Gunarto, 2020). Selain itu, ekstrak N-heksana juga mengandung polifenol. Hal ini menunjukkan bahwa metabolit yang dihasilkan oleh ekstrak N-heksana menyebabkan efek mematikan pada larva *Ae. aegypti* lebih baik daripada ekstrak air. Polifenol merupakan kelompok senyawa yang mempunyai banyak turunan. Polifenol dapat berupa flavonoid dan tanin (Ergina, Nuryanti, dan Pursitasari, 2014). Namun kedua senyawa tersebut tidak menunjukkan hasil positif dalam penelitian ini. Sogandi dan Gunarto (2020) menjelaskan bahwa polifenol bekerja sebagai racun perut. Sinergi polifenol dengan saponin, flavonol, dan minyak atsiri memiliki efek fagositosis. Kandungan terpenoid menunjukkan efek larvasida pada kedua jenis ekstrak, sehingga terdapat perbedaan dengan kontrol.

Sedangkan kandungan polifenol menunjukkan khasiat yang lebih tinggi, sehingga ekstrak N-heksana memiliki tingkat mortalitas larva yang lebih besar. Ekstrak N-heksana memiliki efek larvasida lebih baik karena adanya kandungan terpenoid dan polifenol.

Ekstrak air dan N-heksana pada penelitian ini menunjukkan hasil mortalitas yang berbeda. Uji larvasida terhadap genus *Cassia*, berbeda spesies yang diekstraksi dengan pelarut berbeda juga menunjukkan perbedaan potensi larvasida. Alayo *et al* (2015) meneliti efek larvasida daun dan polong *C. mimosoides* menggunakan pelarut, petroleum eter, diklorometana, etanol, dan air. Spesies nyamuk yang diuji adalah *Anopheles gambiae*. Pelarut petroleum eter memiliki potensi larvasida tertinggi, sedangkan pelarut air mempunyai efek larvasida terendah. Penggunaan pelarut air pada penelitian tersebut mempunyai hasil mortalitas yang lebih rendah dibandingkan ekstrak air pada penelitian ini. Observasi selama 24 jam menemukan LC50 ekstrak air daun *C. siamea* sebesar 2286 ppm, sedangkan ekstrak air daun dan polong *C. mimosoides* sebesar 5,53 mg/ml (sama dengan 5530 ppm). Perbedaan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi mempengaruhi potensi larvasida ekstrak.

Aktivitas larvasida ekstrak N-heksana daun *C. siamea* juga menunjukkan efek yang lebih baik daripada temephos. Larva *Ae. aegypti* yang digunakan dalam penelitian ini diduga telah resisten terhadap temephos dengan dosis 0,0001 mg/L. Konsentrasi ini 120 kali lebih kecil dari rekomendasi WHO (1992) sebesar 0,012 mg/L. Meskipun dosis temephos lebih kecil dari ekstrak N-heksana, namun penggunaan bahan herbal seperti ekstrak N-heksana lebih ramah lingkungan (WHO, 2011). Mulyatno *et al* (2012) menjelaskan bahwa resistensi temephos dari *Ae. aegypti* terjadi di Surabaya. Hal ini mungkin dikarenakan penggunaan larvasida yang tidak sesuai dengan dosis rekomendasi. Resistensi dapat meningkatkan kemungkinan

terjadinya infeksi tular vektor, khususnya infeksi virus dengue, akibat penularan nyamuk transovarial ke generasi berikutnya seperti yang terjadi di Yogyakarta (Sutarto *et al*, 2014).

Tingginya jumlah pupa dan nyamuk dalam ekstrak air *C. siamea* menunjukkan kandungan gizi yang besar dalam ekstrak air. Air sebagai pelarut polar banyak mengandung karbohidrat dari daun *C. siamea*. Penggunaan pelarut polar mengakibatkan penyerapan karbohidrat yang besar (Veercahari dan Bopiah, 2011).

6.2 Uji Perubahan Morfologi

Panjang larva *Ae. aegypti* instar ketiga berkisar antara Uji Efek Mortalitas 4 mm hingga 4.8 mm, sedangkan panjang instar keempat antara 6,4 mm hingga 8,0 mm (Bar dan Anaya, 2013). Selama perkembangannya, larva instar ketiga akan berkembang menjadi instar keempat diikuti dengan penambahan panjang. Penentuan panjang ini dapat digunakan untuk menilai pengaruh larvasida terhadap pertumbuhan larva.

Larva *Ae. aegypti* yang diletakkan pada media ekstrak air daun *C. siamea* tampak lebih panjang dibanding media yang lain. Protein menjadi nutrisi utama larva untuk dapat berkembang menjadi pupa (Fadilah, 2018). Masyitoh, Dewanti, dan Setyorini (2016) menjelaskan pengaruh polaritas pelarut terhadap hasil penyerapan protein. Pelarut polar dapat menyerap zat polar lebih efektif dibanding zat non-polar. Protein merupakan zat polar. Air merupakan pelarut yang sangat baik dalam menyerap protein. Pada hasil penelitian, larva *Ae. aegypti* dapat bertumbuh hingga 6 mm. Ukuran ini menunjukkan perkembangan larva *Ae. aegypti* hingga dapat berkembang menjadi larva instar keempat. Ekstrak air daun *C. siamea* mungkin mengandung nutrisi protein yang dibutuhkan larva *Ae. aegypti* untuk bertumbuh dan berkembang.

Protein bagi larva *Ae. aegypti* sangat penting bagi larva. Asam amino spesifik seperti arginin, prolin, triptofan, fenilalanin, sistein, tirosin, dan glisin sangat

dibutuhkan larva untuk berubah menjadi pupa (Fadilah, 2018). Perkembangan pupa dan nyamuk yang hanya terjadi pada kelompok media ekstrak air daun *C. siamea* dapat disebabkan oleh ketersediaan asam aminoyang diperlukan untuk berkembang menjadi pupa. Ekstrak air daun *C. siamea* mungkin mengandung asam amino arginin, prolin, triptofan, fenilalanin, sistein, tirosin, dan glisin.

Panjang larva pada kelompok N-heksana tampak lebih pendek dibanding kelompok lainnya. Menariknya, pada observasi ke-96 jam, panjang larva masih dikategorikan sebagai larva instar ketiga (Bar dan Alayo, 2013). Hasil ini berbeda dengan kelompok larva pada ekstrak air yang telah memasuki instar keempat. Selain itu, rerata panjang larva justru lebih pendek dibandingkan rerata panjang pada observasi 24, 48, maupun 72 jam. Kandungan polifenol pada ekstrak N-heksana mungkin menyebabkan hambatan pertumbuhan larva akibat proses fagositosis (Sogandi dan Gunarto, 2020). Selain itu, kandungan nutrisi pada ekstrak N-heksana mungkin tidak dapat memenuhi kebutuhan larva. Hastuti, Rohadi, dan Putri (2018) meneliti kandungan protein ekstrak N-heksana dan etanol jahe. Dalam analisisnya, terdapat perbedaan kandungan protein pada ekstrak dengan perbedaan pelarut. Penggunaan pelarut N-heksana menunjukkan kandungan protein yang lebih rendah. Kurangnya nutrisi protein dapat mengganggu perkembangan larva (Fadilah, 2018). Efek hambatan pertumbuhan panjang larva mungkin disebabkan oleh kurangnya kandungan protein pada ekstrak N-heksana daun *C. siamea*.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan pengolahan data dan pembahasan dapat disimpulkan:

1. Mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air daun *C. siamea* didapatkan LC50 dan LC90 sebesar 2286 ppm dan 4280 ppm pada observasi 24 jam, serta 765 ppm dan 1817 ppm pada observasi 48 jam.
2. Mortalitas larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak N-heksana daun *C. siamea* didapatkan LC50 dan LC90 sebesar 778 ppm dan 1136 ppm pada observasi 24 jam, serta 611 ppm dan 921 ppm pada observasi 48 jam.
3. Morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak air daun *C. siamea* didapatkan rerata panjang 5,63 cm pada 24 jam dan 6,11 cm pada 48 jam.
4. Morfologi larva *Ae. aegypti* akibat pemberian ekstrak N-heksana daun *C. siamea* didapatkan rerata panjang 5,8 cm pada 24 jam dan 5,5 cm pada 48 jam.
5. Perbedaan mortalitas larva *Ae. aegypti* didapatkan bahwa Ekstrak N-heksana daun *C. siamea* memiliki LC50 2,9 kali dan LC90 3,7 kali lebih efektif pada 24 jam serta memiliki LC50 1,3 kali dan LC90 2,0 kali lebih efektif pada 48 jam dibandingkan ekstrak air daun *C. siamea*.
6. Perubahan morfologi larva *Ae. aegypti* antara pemberian ekstrak air dan ekstrak N-heksana daun *C. siamea* tidak mempunyai perbedaan yang bermakna.

7.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini antara lain:

1. Penelitian lebih lanjut tentang efek larvasida ekstrak daun *C. siamea* perlu dilakukan terhadap genus maupun spesies nyamuk yang lain untuk menentukan kemampuan larvasida berspektrum luas.
2. Perlu dilakukan pengujian kuantitatif kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak daun *C. siamea*
3. Upaya pemberantasan larva *Ae. aegypti* sebaiknya menggunakan larvasida seperti Abate sesuai dengan dosis yang ditentukan untuk memastikan efek letal dan mencegah resistensi pada larva.
4. Penelitian efek larvasida ekstrak daun *C. siamea* terhadap larva *Ae. aegypti* perlu dilakukan hingga tahap histopatologi untuk memastikan mekanisme kerja dari ekstrak.

7.3 Hambatan

Hambatan yang dijumpai adalah pelaksanaan uji larvasida harus dilakukan dalam laboratorium terstandar, kondisi pandemi menyebabkan proses pembuatan ekstrak hingga pelaksanaan uji terhadap larva terhambat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, A., Vifta, R. L., dan Dyahariesti, N. 2020. Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Ekstrak Bunga Rosella Dengan Perbandingan Pelarut Etanol 96% Dan 70% Serta Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH. Skripsi. Ungaran: Universitas Ngudi Waluyo. Diakses 25 Januari 2022 pukul 09.20 WIB
- Arnida, Sutomo, dan Utsna Uhdatul Khoriah. 2018. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem dari Fraksi N-heksana Daun Manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Asal Kotabaru Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*. Vol. 2, No. 3. Diakses 16 Januari 2022 pukul 15.31 WIB
- Aznam, N., Kuswandi, B., Hidayat, M. A., dan Sulistiowaty, E. 2012. Kimia Farmasi. Tangerang: Universitas Terbuka.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Jumlah Kasus HIV/AIDS, IMS, DBD, Diare, TB, dan Malaria Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Jawa Timur, 2017. Surabaya: Badan Pusat Statistik
- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin AgroBio*. Vol. 5, No. 1. Diakses 25 Januari pukul 08.20 WIB
- Bar, A., and Andrew, J. 2013. Morphology and Morphometry of *Aedes aegypti* Larvae. *Annual Review & Research in Biology*. Vol. 3, No. 1. Diakses 24 Mei 2020 pukul 12.23 WIB
- BASF. 2018. Lembaran Data Keselamatan. [online]. (Diupdate 23 Januari 2018) https://pest-control.basf.co.id/sites/default/files/2018-03/abate_1_g_-_prd_30150912.pdf . Diakses 25 Januari 2022 pukul 09.31 WIB
- Chandrasekaran, T., Thyagarajan, A., Santhakumari, P. G., Pillai, A. K. B., and Krishnan, U. M. (2019). Larvicidal activity of essential oil from *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* on dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Vol. 52. doi: 10.1590/0037-8682-0459-2018 diakses tanggal 11 April 2020 pukul 17.10 WIB

- CDC. 2019. Transmission. [online]. (Diupdate 26 September, 2019) <https://www.cdc.gov/dengue/transmission/index.html> . Diakses 21 April 2020 pukul 07.30 WIB
- , 2019. About Dengue: What You Need to Know. [online]. (Diupdate 3 Mei 2019) <https://www.cdc.gov/dengue/about/index.html> . Diakses 7 Mei 2020 pukul 02.22 WIB
- , 2020. Larvicides. [online]. (Diupdate 24 Agustus 2020) <https://www.cdc.gov/mosquitoes/mosquito-control/community/larvicides.html> . Diakses 25 Januari 2022 pukul 08.30 WIB
- Chouin-Carneiro, T., Vega-Rua, A., Vazeille, M., Yebakima, A., Girod, R., Goindin, D., Dupont-Rouzeyrol, M., Lourenço-de-Oliveira, R., and Failloux, A. B. 2016. Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. Vol. 10, No. 3. doi: 10.1371/journal.pntd.0004543 diakses 7 Mei 2020 pukul 03.01 WIB
- Dachlan, Y. P., Soedarto, Ideham, B., Hidajati, S., Kusmartisnawati, Safriah, A., Machfudz, Pusarawati, S., Yotopranoto, S., Tantular, I. S., Arwati, H., Basuki, S., Prasetyo, R. H., Sulistyawati, A. W., Kartikasari, D. P., dan Rossyanti, L. 2019. Buku Penuntun dan Laporan Praktikum Parasitologi Kedokteran. Surabaya
- Djakaria, S. 2004. Pendahuluan Entomologi: Parasitologi Kedokteran Edisi Ketiga. Jakarta
- Eilerts, Diane. 2017. Recombinant Expression And Potential Autocatalysis Of *Aedes aegypti* Trypsin-Like Serine Proteases (AASPII AND AASPIV). Thesis. Washington: San José State University
- Ekasari, W., Widiyastuti, Y., Subositi, D. et al. 2020. Determination of Cassiarin A Level of *Cassia siamea* Leaf Obtained from Various Regions in Indonesia Using the TLC-Densitometry Method. *The Scientific World Journal*. Vol. 2020. Diakses 15 Desember 2021 pukul 14.03 WIB

- Ergina, Nuryanti, S., dan Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. Vol. 3, No. 3. Diakses 16 Januari 2022 pukul 14.50 WIB
- Fadilah, Dewi Rahmah. 2018. Potensi Tepung Lalat *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens* L.) sebagai Pakan Alternatif Pemeliharaan Larva Nyamuk *Ae. aegypti* (L.). Skripsi. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Fiaz, M., Martínez, L. C., Plata-Rueda, A., Gonçalves, W. G., de Souza, D., Cossolin, J., Carvalho, P., Martins, G. F., and Serrão, J. E. 2019. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ*, No. 7, e7489. doi: 10.7717/peerj.7489
- Fuadzy, H., Hodijah, D. N., Jajang, A., dan Widawati, M. 2015. Kerentanan larva *Aedes aegypti* terhadap temefos di tiga kelurahan endemis demam berdarah dengue Kota Sukabumi. *Buletin Penelitian Kesehatan*. Vol. 43, No. 1. Diakses 7 Mei 2020 pukul 02.48 WIB
- Famuyiwa, F. G., Adewoyin, F. B., Oladiran, O. J., and Obagbemi, O. R. 2020. Larvicidal Activity of Some Plants Extracts and Their Partitioned Fractions against *Culex quinquefasciatus*. *International Journal of Tropical Disease & Health*. Vol. 41, No. 11. doi: 10.9734/IJTDH/2020/v41i1130332 diakses 11 September 2020 pukul 17.00 WIB
- Gaburro, J., Paradkar, P. N., Klein, M., Bhatti, A., Nahavandi, S., and Duchemin, J. B. 2018. Dengue virus infection changes *Aedes aegypti* oviposition olfactory preferences. *Scientific reports*. Vol. 8, No. 1. doi: 10.1038/s41598-018-31608-x diakses 24 Mei 2020 pukul 12.06 WIB
- Hastuti, D., Rohadi, dan Putri, A. S. 2018. Rasio N-heksana-Etanol Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Oleoresin Ampas Jahe (*Zingiber Majus* Rumph) Varietas Emprit. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*. Vol. 13, No. 1. Diakses 17 Januari 2022 pukul 07.07 WIB

- Hendrati, R. L., dan Hidayati, N. 2014. Budidaya Johar (*Cassia seamea*) Untuk Antisipasi Kondisi Kering. Jakarta: IPB Press
- Hendri, J., Santya, R. N. R. E., dan Prasetyowati, H. 2015. Distribusi dan Kepadatan Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) Berdasarkan Ketinggian Tempat di Kabupaten Ciamis Jawa Barat. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. Vol. 14, No. 1. Diakses 6 Mei 2020 pukul 12.20 WIB
- Hidayat, M. C., Santoso, L., dan Suwasono, H. 1997. Pengaruh pH Air Perindukan terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *Aedes aegypti* Pra Dewasa. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 119. Diakses 17 Januari 2022 pukul 04.40 WIB
- Hijjarahwati, Ariyadi, T., dan Iswara, A. 2018. Pengaruh Variasi Derajat Keasaman (pH) Air Terhadap Pertumbuhan Larva *Aedes* sp. Repositori. Semarang: UNIMUS. Diakses 17 Januari 2022 pukul 07.20 WIB
- Hopkins, William G., and Huner, Norman P. A. 2008. Introduction to Plant Physiology. Fourth Edition. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Hossain, M. S., Urbi, Z., Sule, A. et al. 2014, *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: a review of ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*. Vol. 2014. Diakses 15 Desember 2021 pukul 14.31 WIB
- Indrayani, Y. A., dan Wahyudi, T. 2018. Situasi Penyakit Demam Berdarah di Indonesia Tahun 2017. *Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*
- Jiraungkoorskul, K., and Jiraungkoorskul, W. 2015. Larvicidal and Histopathological Effects of *Cassia siamea* Leaf Extract Against *Culex quinquefasciatus*. *Tropical Life Sciences Research*, Vol. 26, No. 2. Diakses 11 April 2020 pukul 17.10 WIB
- Khairunnisa, Umar, M., dan Rupawan, I. K. 2017. *Uji Efek Ekstrak Daun Johar (Cassia seamea) sebagai Larvasida terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti*. Skripsi. Palu: University of Tadulako. Diakses 9 Desember 2021 pukul 18.03 WIB

- Kemenkes RI. 2010. Buletin Jendela Epidemiologi Demam Berdarah Dengue. *Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI*, Vol. 2
- Kemenkes RI. 2018. Panduan Monitoring Resistensi Vektor Terhadap Insektisida. Jakarta: Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Pengendalian Penyakit.
- Kuhn, R. J., Zhang, W., Rossmann, M. G., Pletnev, S. V., Corver, J., Lenches, E., Jones, C. T., Mukhopadhyay, S., Chipman, P. R., Strauss, E. G., Strauss, J. H., and Baker, T. S. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. Vol. 108, No. 5. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00660-8 diakses 23 Mei 2020 pukul 06.37 WIB
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK). 2015. AZARDIRACTIN (C35H44O16) SEBAGAI ALTERNATIF PENGANTI DDT. [online]. (Diupdate 2015). <http://sib3pop.menlhk.go.id/index.php/articles/view?slug=azardiractin-c35h44o16-sebagai-alternatif-pengganti-ddt> . Diakses 26 Januari 2022 pukul 20.04 WIB
- Lounibos, L. P., and Kramer, L. D. 2016. Invasiveness of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and vectorial capacity for chikungunya virus. *The Journal of infectious diseases*. Vol. 214, No. suppl_5. doi: 10.1093/infdis/jiw285 diakses 7 Mei 2020 pukul 03.05 WIB
- Mahdalena, V., dan Ni'mah, T. 2019. Potensi dan Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Pengendalian Penyakit Tular Nyamuk. *Spirakel*. Vol. 11, No. 2. Diakses 16 Mei 2020 pukul 03.42 WIB
- Mantolu, Y., Kustiati, K., Ambarningrum, T. B., Yusmalinar, S. dan Ahmad, I. 2016. Status dan Perkembangan Resistensi *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) strain Bandung, Bogor, Makassar, Palu, dan VCRU Terhadap Insektisida Permetrin dengan Seleksi Lima Generasi. *Jurnal Entomologi Indonesia*. Vol. 13, No. 1. doi: 10.5994/jei.13.1.1 diakses 7 Mei 2020 pukul 04.30 WIB

- Masyitoh, M. D., Dewanti, I. D. A. R., dan Setyorini, D. 2016. Analisis Profil Protein Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) dengan Metode SDS-PAGE (*Protein Profile Analysis of Aquadest and Ethanol Extract of Neem Leaves by Means of SDS-PAGE Method*). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 4, No. 3. Diakses 16 Januari 2022 pukul 14.05 WIB
- Mukherjee, D., Das, S., Begum, F., Mal, S., and Ray, U. 2019. The Mosquito Immune System and the Life of Dengue Virus: What We Know and Do Not Know. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. Vol. 8, No. 2. doi: 10.3390/pathogens8020077 diakses 24 Mei 2020 pukul 12.24 WIB
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. VII, No.2 diakses 15 Desember 2020 pukul 15.27 WIB
- Mullen, G. R., and Durden, Lance A. 2019. Medical and Veterinary Entomology. Third Edition. London: Academic Press
- Mulyatno, K. C., Yamanaka, A., Ngadino, et al. 2012. Resistance of *Aedes aegypti* (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. Vol. 43, No. 1. Diakses 14 Desember 2021 pukul 14.33 WIB.
- Murugesan, A., and Manoharan, M. 2020. Dengue Virus. In Emerging and Reemerging Viral Pathogens. Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-819400-3.00016-8
- Nicoletti, M., Mariani, S., Maccioni, O., et al. 2012. Neem cake: chemical composition and larvicidal activity on Asian tiger mosquito. *Parasitol Res*. Vol. 111. Diakses 15 Januari 2021 pukul 15. 04 WIB
- Novelo, M., Hall, M. D., Pak, D., Young, P. R., Holmes, E. C., and McGraw, E. A. 2019. Intra-host growth kinetics of dengue virus in the mosquito *Aedes aegypti*. *PLoS pathogens*. Vol. 15, No. 12, e1008218. doi: 10.1371/journal.ppat.1008218 diakses 25 Mei 2020 pada pukul 23.14 WIB
- Nugroho, S. S., Mujiyono, M., Setiyaningsih, R., Garjito, T. A., dan Ali, R. S. M. 2019. Daftar Spesies dan Data Distribusi Terbaru Nyamuk Aedes Dan Verrallina (Diptera: Culicidae) di Indonesia. *Vektora: Jurnal Vektor dan*

Reservoir Penyakit. Vol. 11, No. 2. doi: 10.22435/vk.v11i2.1462 diakses 5 Mei 2020 pukul 22.13 WIB

Pavananundt, P., Jiraungkoorskul, K., Kosai, P., and Jiraungkoorskul, W. 2013. Larvicidal properties of *Cassia siamea* leaf against *Aedes aegypti* larvae. *International Journal of Modern Agriculture*. Vol. 2, No. 1. Diakses 11 April 2020 pukul 17.10 WIB

Pineda-Cortel, M., Cabantog, R., Caasi, P. M. et al. 2019. Larvicidal and ovicidal activities of *Artocarpus blancoi* extracts against *Aedes aegypti*. *Pharmaceutical biology*. Vol. 57, No. 1. Diakses 10 Desember 2021 pukul 15.01 WIB

Purnama, M. T. E., Prastiya, R. A., Fikri, F., Saputro, A. L., & Agustono, B. 2018. Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Menurunkan Indikasi Neoplasia Mammarik Tikus Putih Berdasarkan Histopatologi dan Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Veteriner*. Vol. 19, No. 1. doi: 10.19087/jveteriner.2018.19.1.23 diakses 21 Agustus 2020 pukul 08.08 WIB

Rajab, Wahyudin. 2009. *Buku Ajar Epidemiologi untuk Mahasiswa Kebidanan*. Jakarta: EGC.

Ramayanti, I., dan Febriani, R. 2016. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Syifa' MEDIKA*. Vol. 6, No. 2. Diakses 9 Mei 2020 pukul 13.27 WIB

Ratu, A. P., dan Bunjamin, F. S. 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Etanol 96%, Etil Asetat dan N-heksana Daun Johar (*Cassia Siamea* Lamk) dengan Metode Pengangkal Radikal Bebas DPPH. *The 9th University Research Colloquium (Urecol)*. Vol. 9, Vol. 1. Diakses 31 Agustus 2020 pukul 01.59 WIB

Sasmilati, Uyun, Pratiwi, Arum Dian, dan Saktiansyah, La Ode Ahmad. 2017. Efektivitas Larutan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn) Sebagai Larvasida Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti* di Kota Kendari Tahun 2016. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. Vol. 2, No. 6. Diakses 8 Juni 2020 pukul 16.19 WIB

- Satoto, T.B.T., Listyantanto, A., Agustjahjani, S.D., Josef, H. K., and Widartono, B. S. 2018. Vertical transmission of dengue virus in the Yogyakarta airport area. *Environmental Health and Preventive Medicine*. Vol. 23, No. 22. doi: 10.1186/s12199-018-0711-6 diakses 25 Agustus 2020 pukul 12.15 WIB
- Singh, P. K. 2014. Symposium on Dengue Prevention and Control. [online]. World Health Organization.
<https://www.who.int/southeastasia/news/speeches/detail/symposium-on-dengue-prevention-and-control> . Diakses 21 April 2020, pukul 07.33 WIB
- Shi, M. A., Lougarre, A., Alies, C., Fremaux, I., Tang, Z. H., Stujan, J. and Fournier, D. 2004. Acetylcholinesterase Alterations Reveal the Fitness Cost of Mutations Conferring Insecticide Resistance. *Art.of BMC Evolutionary Biology*. Vol. 4, No. 5. Diakses 17 September 2020 pukul 03.00 WIB
- Sogandi dan Gunarto, Fadhli. 2020. Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator*. Vol. 12, No. 1. doi: 10.22435/asp.v12i1.1288 diakses 14 September 2020 pukul 13.59 WIB
- Solichah, N., Martini, M., dan Susanto, H. S. (2016). Pengaruh Pemberian Larvasida Insect Growth Regulator (IGR) Berbahan Aktif Pyriproxyfen Terhadap Perubahan Angka Bebas Jentik (ABJ) Di Kelurahan Bulusan Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol. 4, No. 1. Diakses 16 Mei 2020 pukul 03. 15 WIB
- Steenis, C. G. G. J. 1997. Flora. Jakarta: Pradnya Paramita
- Sudarmo, S. 1991. Petisida. Yogyakarta: Kanisius
- Sukohar, Asep. 2014. Buku Ajar Farmakologi Neufarmakologi-Asetilkolin dan Efinefrin. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- Sutarto dan Syani, A. Y. 2018. Resistensi Insektisida pada *Aedes aegypti*. *Jurnal Agromedicine Unila*. Vol. 5, No. 2. Diakses 7 Mei 2020 pukul 16.25 WIB

- Teklani, P. W. N. N., dan Perera, B. G. K. 2017. Mosquito Repellent and Larvicidal Activities of *Acalypha indica* Leaf Extracts. *International Journal of Pharmaceutics & Pharmacology*, Vol. 1, No. 2. Diakses 15 Desember 2021 pukul 20.01 WIB
- Thongwat, D., Chokchaisiri, R., Ganranoo, L., et al. 2018. Larvicidal efficacy of crude and fractionated extracts of *Dracaena loureiri* Gagnep against *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex quinquefasciatus*, and *Anopheles minimus* mosquito vectors,” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 8, No. 5. Diakses 15 Desember 2021 pukul 22.17 WIB
- Trisyono, Y. A. 2019. Insektisida Pengganggu Pertumbuhan dan Perkembangan Serangga. Yogyakarta: UGM PRESS.
- T3DB. 2014. Diflubenzuron (T3D4921). [online]. (Diupdate 24 Desember 2014) <http://www.t3db.ca/toxins/T3D4921#identification> . Diakses 25 Januari 2022 pukul 07.49 WIB
- van Schoor, T., Kelly, E. T., Tam, N. et al. 2020. Impacts of Dietary Nutritional Composition on Larval Development and Adult Body Composition in the Yellow Fever Mosquito (*Aedes aegypti*). *Insects*, Vol. 11, No. 8, Diakses 15 Desember 2021 pukul 21.00 WIB
- Veerachari, U., dan Bopaiah, A. K. 2011. Preliminary phyto-chemical evaluation of the leaf extract of five *Cassia* species. *Journal of Chemical and Pharmaceutical research*. Vol. 3, No. 5. Diakses 14 Desember 2021 pukul 12.31 WIB
- Warikoo, R., Ray, A., Sandhu, J. K., Samal, R., Wahab, N., and Kumar, S. 2012. Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 2, No. 2. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60211-6 diakses 11 April 2020 pukul 17.10 WIB
- Wasilah, S. Z. 2019. Efektifitas Larvasida Ekstrak Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Dan *Culex sp.* *MEDIA*

BINA ILMIAH. Vol. 14, No. 4. Diakses 21 Desember 2021 pada pukul 22. 35 WIB

WHO. 1992. Vector Resistance to Pesticides: Fifteenth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. *WHO Technical Report Series*. Vol. 818.

-----, 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides (No. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13). World Health Organization.

-----, 2009. Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. World Health Organization

Widawati, M., dan Prasetyowati, H. 2013. Efektivitas Ekstrak Buah *Beta vulgaris* L.(Buah Bit) dengan Berbagai Fraksi Pelarut terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *ASPIRATOR-Journal of Vector-borne Disease Studies*. Vol. 5, No. 1. Diakses 29 Agustus 2020 pukul 02.12 WIB

Yusuf, S. F. 2015. Epidemiologi. Padangsidempuan: Darmais Press

LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Kelaikan Etik



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
UNIVERSITAS AIRLANGGA SCHOOL OF MEDICINE
SURABAYA, INDONESIA**

**KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"**

No. 222/EC/KEPK/FKUA/2021

**Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by**

**Peneliti Utama : Gabriel Pedro Mudjiyanto
Principal in Investigator**

**Tempat Penelitian : Lembaga Penyakit Tropis, Laboratorium Fitofarmaka Fakultas
Allocation of Research Farmasi UNAIR**

**Dengan judul:
Title**

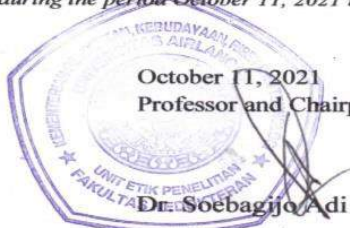
**"PERBEDAAN MORTALITAS, PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI
LARVA AEDES AEGYPTI ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK AIR DAN EKSTRAK N-
HEKSANA DAUN JOHAR (CASSIA SIAMEA)"**

**"THE COMPARISON STUDY ON THE EFFECT CASSIA SIAMEA LEAVES EXTRACTED BY WATER AND N-
HEXANE ON THE MORTALITY, MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF AEDES
AEGYPTI LARVAE"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 11 Oktober 2021 sampai dengan tanggal 11 Oktober 2022.
This declaration of ethics applies during the period October 11, 2021 until October 11, 2022.



**October 11, 2021
Professor and Chairperson,**

Dr. Soebagijo Adi Soelistijo, dr., Sp.PD, K-EMD., FINASIM., FACP

**Lampiran 2 Surat Ijin Penelitian Laboratorium Fitofarmaka Fakultas Farmasi
Universitas Airlangga**



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS FARMASI**

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5933150, Fax (031) 5935249
Laman: <http://www.ff.unair.ac.id>, e-mail: info@ff.unair.ac.id

Nomor : 1876/UN3.1.5/PT/2021
Lampiran : satu lembar
Hal : *Permohonan izin penelitian*

7 September 2021

Yth. Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran UNAIR
Kampus A-UNAIR
Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47
Surabaya 60131

Sehubungan dengan surat dari Saudara Nomor : 2276/UN3.1.1/DL.10/2021 tertanggal, 24 Agustus 2021 perihal Permohonan Izin Penelitian mahasiswa Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, maka dengan ini kami mengizinkan mahasiswa tersebut untuk melakukan penelitian di Laboratorium Fitofarmaka Fakultas Farmasi Universitas Airlangga :

N a m a : Gabriel Pedro Mudjianto
N I M : 011811133002
Judul Penelitian : PERBEDAAN MORTALITAS, PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA AEDES AEGYPTI ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK N-HEKSANA DAUN JOHAR (CASSIA SIA SIAMEA).
Supervisi : Dr. Wiwied Ekasari, Dra., Apt., M.Si.

Demikian atas perhatian serta kerjasamanya kami sampaikan terima kasih.

A.n. Dekan
Wakil Dekan I,



Dr. Rieta Primaharinastiti, S.Si., M.Si., Apt.
NIP 197204181997032001

Tembusan :

1. Dekan FF-UNAIR (sebagai laporan)
2. Ketua Departemen Ilmu Kefarmasian FF-UNAIR
3. Pj. Laboratorium Fitofarmaka FF-UNAIR
4. Dr. Wiwied Ekasari, Dra., Apt., M.Si.

Lampiran 3 Surat Ijin Penelitian Lembaga Penyakit Tropis**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENYAKIT TROPIS**

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. 62-31-5992445-46 fax. 62-31-5992445
Website: www.itd.unair.ac.id Email: sekretariat@itd.unair.ac.id / lpt_unair@hotmail.com

15 April 2021

No. : / 60 / UN3.9.4 / TU / 2021
Hal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Wakil Dekan I
Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Menindaklanjuti surat nomor: 698/UN3.1.1/DL.10/2021 tanggal 01 April 2021 tentang Permohonan Ijin Penelitian atas nama:

No.	NIM.	Nama Lengkap
1.	011811133002	Gabriel Pedro Mudjiyanto

maka dengan ini kami sampaikan bahwa tidak keberatan mahasiswa tersebut melakukan penelitian yang berjudul "Perbedaan Mortalitas, Perubahan Morfologi dan Histopatologi Larva *Aedes aegypti* antara Pemberian Ekstrak Air dan Ekstrak N-Heksana Daun Johar (*Cassia siamea*)" di Laboratorium Entomologi.

Adapun persyaratan adalah sebagai berikut:

1. Peserta membayar biaya registrasi sebesar Rp. 70.000,- (Tujuh puluh ribu rupiah)
2. Pas foto 4x6 1 lembar
3. Photocopy KTM 1 lembar
4. Peserta bersedia menambahkan ucapan terima kasih kepada Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga pada *Acknowledgement* saat publikasi.

Atas perhatiannya kami sampaikan terima kasih.



Prof. Maria Inge Lusida, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.MK(K).
NIP. 19580917 198603 2 001

Tembusan:

Mahasiswa yang bersangkutan

Lampiran 4 Surat Determinasi Simplisia Daun Johar


KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

 BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
 TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah 57792

Telepon : (0271) 697010 Faksimile : (0271) 697451

Surat Elektronik b2p2to2t@gmail.com / b2p2to2t@litbang.depkes.go.id

Laman www.b2p2to2t.litbang.kemkes.go.id

 Nomor : YK.01.03/2/206/ /2019
 Hal : Keterangan Determinasi

11 September 2019

 Yth. Dr. Ir. Yuli Widiyastuti, M.P.
 Tawangmangu

Dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

Nama Sampel	: Johar
Sampel	: Spesimen Segar
Spesies	: <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby
Sinonim	: <i>Cassia siamea</i> Lam.; <i>Cassia sumatrana</i> DC.; <i>Sciacassia siamea</i> (Lam.) Britton
Familia	: Fabaceae
Nama Pemohon	: Dr. Ir. Yuli Widiyastuti, M.P.
Penanggung Jawab Identifikasi	: Anshary Maruzy, S.Si.

Hasil determinasi tersebut hanya mencakup sampel tumbuhan yang telah dikirimkan ke B2P2TOOT.

Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.

Kepala Balai Besar Litbang
Tanaman Obat dan Obat Tradisional,



Akhmad Saikhu, M.Sc.PH.
NIP 196805251992031004

Lampiran 5 Uraian tentang Jadwal Kegiatan

Kegiatan	2020				2021				2022
	Feb- Mar	Apr- Jun	Jul- Sep	Okt- Des	Jan- Mar	Apr- Jun	Jul- Sep	Okt- Des	Jan
Pembuatan Proposal									
Ujian Proposal									
Perbaikan Proposal									
Kelaikan Etik Penelitian									
Pegurusan Ijin Penelitian									
Pelaksanaan Penelitian									
Analisa Hasil Penelitian									
Penulisan Skripsi, Karya Ilmiah, dan Publikasi									
Ujian Skripsi									
Perbaikan Skripsi									

Lampiran 6 Rincian Anggaran

No	Kebutuhan	Jumlah	Harga satuan		Harga total	
1	Peminjaman Laboratorium	1	Rp	150.000,00	Rp	150.000,00
2	Larva	10	Rp	85.000,00	Rp	850.000,00
3	Bubuk Abate	3	Rp	5.000,00	Rp	15.000,00
4	Fotocopy dan Print	-		-	Rp	250.000,00
Jumlah Pengeluaran					Rp	1.265.000,00