

BIOLARVASIDA NYAMUK *Aedes aegypti* DARI FRAKSI HEKSANA KULIT BATANG *Rhizophora mucronata*

Febby Andriyani¹, Maffichatul Azmi Afifah¹, Serdian Pinaris Rama¹, Mahmiah²

⁽¹⁾ Mahasiswa Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

⁽²⁾ Dosen Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

Korespondensi, febuhtfirstfarm14@gmail.com

Abstrak: Indonesia merupakan negara khatulistiwa yang memiliki iklim tropis di dunia dan memiliki kelembapan suhu optimal yang dapat berefek pada kesehatan manusia dan penyakit-penyakit yang ditularkan oleh serangga. Salah satu contoh penyakit tersebut adalah demam berdarah dengue (DBD) yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* pada masyarakat yang menimbulkan epidemi yang menyebar luas. Cara untuk memutus siklus hidup nyamuk-nyamuk tersebut dengan cara mengendalikan vektor penyakit menggunakan larvasida. Dalam penelitian ini melakukan pengembangan biolarvasida dari tanaman yang berasal dari pesisir pantai dekat laut, yaitu mangrove yang spesiesnya *Rhizophora mucronata*. Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) dan LT_{50} (*Lethal Time*) dengan uji aktivitas larvasida pada fraksi heksana kulit batang *R. mucronata* terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah melakukan preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, identifikasi kandungan senyawa dengan skrining fitokimia dan analisis GC-MS kemudian melakukan uji aktivitas biolarvasida. Hasil yang didapat dari penelitian ini ialah teridentifikasi senyawa metabolit sekunder dari uji fitokimia yaitu saponin, terpenoid dan steroid dan berbeda hasilnya dengan analisis menggunakan GC MS. Nilai LC_{50} selama 48 jam sebesar 78819,5 ppm dan nilai LT_{50} sebesar 1512 jam

Kata kunci: *Rhizophora mucronata*, fraksi heksana, *Aedes aegypti*, kulit batang dan biolarvasida

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara khatulistiwa yang memiliki iklim tropis di dunia dan memiliki kelembapan suhu optimal yang mendukung kelangsungan kehidupan makhluk hidup. Namun, seiring dengan perubahan iklim yang ekstrim secara global akan berefek pada kesehatan manusia dan penyakit-penyakit yang ditularkan oleh serangga maupun hewan pengerat (Andriani Lili dkk, 2015). Nyamuk merupakan salah satu jenis serangga yang dapat merugikan manusia karena perannya sebagai vektor penyakit. Beberapa jenis penyakit yang disebabkan oleh nyamuk, seperti penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* yang sering berjangkit di masyarakat bahkan menimbulkan epidemi yang menyebar luas. Penyebab utama munculnya epidemi penyakit tersebut adalah berkembangbiakan dan penyebaran nyamuk yang tidak terkendali.

Salah satu cara yaitu memutus siklus hidup nyamuk dengan cara mengendalikan vektor penyakit menggunakan larvasida. Larvasida telah banyak digunakan di masyarakat, tetapi larvasida tersebut membawa dampak negatif pada lingkungan karena mengandung senyawa berbahaya baik bagi manusia maupun lingkungan. Selain itu, larvasida yang berasal dari tumbuhan di darat pun telah dikembangkan tetapi perubahan kondisi lingkungan membuat beberapa tumbuhan darat mengalami perubahan kandungan senyawa aktifnya dan sering terjadinya resistensi terhadap nyamuk maupun lingkungan bila digunakan dalam jangka panjang. Maka, perlu pengembangan larvasida yang berasal dari laut dan ekosistem sekitar pantai salah satunya mangrove.

Seminar Nasional Kelautan XIII

" Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir dalam Rangka Mencapai Kemandirian Ekonomi Nasional "

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 12 Juli 2018

Mangrove merupakan tumbuhan halofilik yang memiliki toleransi tinggi terhadap salinitas air laut. Mangrove terdiri dari beberapa genus yaitu *Avicennia*, *Sonneratia*, *Brugueira*, *Ceriops* dan *Rhizophora*. Dalam penelitian ini digunakan *Rhizophora mucronata* yang termasuk dalam genus *Rhizophora*. Beberapa penelitian menunjukkan *R.mucronata* memiliki aktivitas biologis terhadap antibakteri, antiplasmodial, antioksidan, antifungi, antimikroba, analgesik, antifertilitas, hepatoprotektif dan larvasida (Ali M Syed *et al*,2014).

Penelitian terdahulu menggunakan fraksi aseton dan etanol kulit batang *R.mucronata* sebagai antilarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* di India (Ali M Syed *et al*,2014). Selain itu, terdapat penelitian yang lain juga yaitu fraksi metanol akar *Rhizophora mucronata* dan *Sesuvium portulacastrum* menunjukkan aktivitas terhadap larva nyamuk dengue (Desiyamani P *et al*,2017). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penelitian terhadap aktivitas larvasida fraksi heksana kulit batang *R.mucronata* di Indonesia pada *Aedes aegypti*..

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

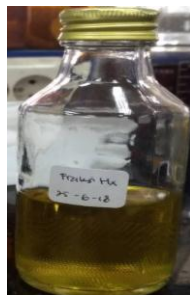
Sampel yang digunakan yaitu sampel kulit batang *R. mucronata* yang diperoleh dari perairan Surabaya, Jawa Timur. Sampel tersebut dikeringkan,lalu digiling menjadi bentuk serbuk. Total sampel yang diperoleh yaitu 1.272,23 gram dandilakukanuji parameter non spesifikterhadapekstrakmetanoldarikulitbatang*R.mucronata*.



Gambar 1. Tumbuhan *R.mucronata* (koleksi pribadi)

Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk kulit batang *R. mucronata* dimaserasi dengan metanol selama 3 x 24 jam, kemudian disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh filtrat yang pekat, bebas pelarut dan berwarna merah kecokelatan. Ekstrak metanol dari kulit batang *R. mucronata* tersebut di fraksinasi dan diperoleh fraksi heksana sebanyak0.09057gram.



Gambar 2. Hasil fraksi heksana kulit batang *R.mucronata*

Identifikasi kandungan kimia

Uji kualitatif kandungan kimia dalam fraksi etil asetat dari ekstrak methanol kulit batang *R. mucronata* dilakukan dengan pereaksi kimia untuk mengidentifikasi golongan tanin, saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid dan antrakinon, metode yang digunakan seperti dalam Harborne (1973).

- Uji Tanin : Sedikit sampel ekstrak ditambahkan 10mL aquades lalu didihkan. Tambahkan beberapa tetes FeCl₃. Adanya warna hijau kecoklatan atau hitam kebiruan menandakan senyawa tanin.
- Uji Saponin : sedikit ekstrak ditambahkan 10mL aquades lalu kocok kuat selama 30 detik. Adanya busa yang stabil menandakan senyawa saponin.
- Uji Flavonoid : sedikit ekstrak dicampur dengan serbuk Mg dan beberapa tetes HCL pekat. Timbulnya warna pink, magenta dan jingga menandakan senyawa flavonoid.
- Uji Alkaloid : sedikit sampel ekstrak di tambahkan dengan sedikit HCL 1%, lalu tambahkan 1mL pereaksi mayer. Adanya endapan atau kekeruhan menandakan senyawa alkaloid.
- Uji steroid : sedikit ekstrak ditambahkan sedikit asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ (pereaksi Liberman Buchard). Adanya warna biru kehijauan menandakan senyawa steroid.
- Uji terpenoid : sedikit ekstrak ditambahkan sedikit asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ (pereaksi Liberman Buchard). Adanya warna merah kecoklatan atau cincin pink kecoklatan menandakan senyawa senyawaterpen.
- Uji Antrakinon : sedikit ekstrak ditambahkan toluena lalu kocok. Fasa toluena diambil lalu tambahkan ammonia. Adanya warna merah menandakan senyawa antrakinon.

Analisis GC-MS

Fraksi heksana dari ekstrak methanol kulit batang *Rhizophora mucronata* L. dianalisis dengan menggunakan GC-MS (Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa). Analisis dengan GC-MS memainkan peran kunci dalam analisis komponen tanaman yang tidak di ketahui (Revanthi et al,2015). Sebanyak 1ul fraksi heksana dari ekstrak methanol kulit batang *R.mucronata* digunakan dalam GC-MS untuk analisis senyawa yang berbeda.Instrumen dan kondisi kromatografi yang dilakukan pada sistem GC-MS HP 6890. Sampel 1 ul diinjeksikan ke GCMS,kemudian kolom yang digunakan adalah capillary model number agilent 19091S-433 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane dengan panjang 30 m, diameter 250um dan ketebalan 0,25um. Temperatur oven yang digunakan antara 100-220°C. Laju kenaikan temperature 15°C/menit dan kecepatan aliran 1.0 ml/menit. Gas pembawa adalah helium bertekanan 10,5 psi dan total laju 140 ml/menit dan split ratio sebesar 1:50. Komponen yang di elusi akan terdeteksi pada detektor massa. Spektrum komponen senyawa yang di ketahui akan tersimpan di library NIST dan menentukan dalam nama senyawa, berat molekul dan termasuk dalam golongan senyawa seperti terpenoid,alkaloid, flavonoid,fenol, asam lemak dan lainnya yang merupakan komponen senyawa yang berguna bagi analisis GC-MS (Doughari James Hamuel,2012).

Uji Aktivitas Larvasida

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva instar-III nyamuk betina *Aedes aegypti* yang tumbuh pada hari ke 2 sampai 3 dengan ukuran 2,5 – 3,9 mm. Proses pengujian yaitu menyiapkan 4 wadah yang masing-masing dimasukkan 20 ekor larva instar-III nyamuk betina *Aedes aegypti*, DMSO 1% dan 200mL air. Wadah pertama sebagai blanko sedangkan wadah kedua dan selanjutnya ditambah dengan larutan uji. Larutan uji yang digunakan mempunyai kadar 226,425 ppm, 452,85 ppm, 905,7 ppm, 1811,4 ppm dan 3622,8 ppm. Bila senyawa yang diuji tidak larut dalam air, maka senyawa tersebut dilarutkan dalam pelarut organik polar yang larut dalam air. Pengamatan dilakukan pada saat 6, 18, 24 dan 48 jam setelah terjadi kontak antara larva dan larutan uji. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali (Kristanti dkk.,2008). Kematian larva dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Kematian} = \frac{A-B}{C} \times 100\%$$

A= jumlah larva yang mati pada larutan uji

B= jumlah larva yang mati pada blanko

C= jumlah larva mula-mula

Jika kematian pada kontrol lebih dari 10%, maka uji dibatalkan dan dilakukan pengujian ulang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada pada fraksi heksana ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* L. maka fraksi tersebut diuji melalui skrining fitokimia dan analisis Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. Uji skrining dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa tanin, saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid dan antrakinon dan pereaksi yang digunakan antara lain pereaksi spesifik seperti Liberman Buchard, HCL, FeCl₃, dan ammonia. Pada skrining fitokimia dari fraksi heksana kulit batang *Rhizophora mucronata* L. diperoleh hasil adanya golongan senyawa saponin, terpenoid, dan steroid seperti yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia Kulit Batang Fraksi heksana *R. mucronata*

No.	Skrining Fitokimia	Hasil
1.	Tanin	-
2.	Saponin	+
3.	Terpenoid	+
4.	Steroid	+
5.	Flavonoid	-
6.	Alkaloid	-
7.	Antrakinon	-

Positif (+) ada, Negatif (-) tidak ada

Selanjutnya, dilakukan analisis dengan menggunakan kromatografi Gas-spektroskopi Massa (GC—MS). Hal tersebut dilakukan untuk membandingkan hasil skrining fitokimia secara kualitatif dengan hasil uji kuantitatif yang menggunakan kromatografi Gas-spektroskopi Massa (GC—MS). Hasil analisis menggunakan kromatografi Gas-spektroskopi Massa (GC—MS) dapat dilihat pada tabel 2. Hasil analisis tersebut menunjukkan 11 senyawa yang teridentifikasi dalam fraksi heksana kulit batang *Rhizophora mucronata*. Senyawa tersebut antara lain 5 senyawa golongan alkohol yaitu 3-Hexanol, 4-methyl- (9,56%), 3-pentanol, 3-methyl- (22,76%), 2-butanol, 2-methyl- (9,29%), cyclopentanol, 1-methyl- (42,97%) dan phenol, bis(1,1-dimethylethyl) (0,25%), 1 senyawa golongan aldehid yaitu butanal, 3-methyl- (2,19%), 1 senyawa golongan aromatik yaitu oxirane, 2-methyl-3-propyl-, cis- (10,80%) dan 1 senyawa golongan asam lemak yaitu tetrahydroxycyclopentadienone (2,18%).

Analisis GC-MS dalam hal ini menggunakan GC-MS HP 6890. Dari kromatogram tersebut terdapat satu puncak yang paling dominan dilihat dari persen area yaitu 42,97%, senyawa tersebut adalah golongan senyawa alkohol, Cyclopentanol, 1-methyl. Puncak serapan dominan ini merupakan puncak serapan yang pertama dengan waktu retensi 2.759 menit pada gambar 3 dan 4.

Seminar Nasional Kelautan XIII

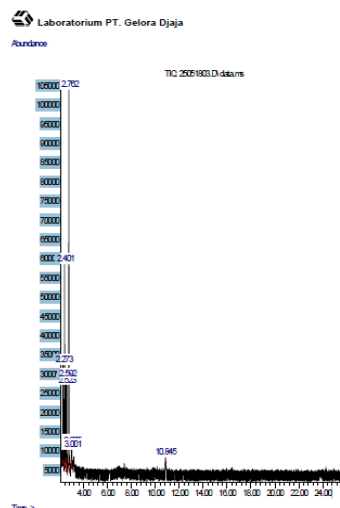
" Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir dalam Rangka Mencapai Kemandirian Ekonomi Nasional "

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 12 Juli 2018

Tabel 2. Komponen fitokimia yang teridentifikasi pada Fraksi Heksana Kulit Batang *R.mucronata* dengan analisis GC-MS

Peak	R. Time	Nama Senyawa	Rumus Kimia	BM Hasil GC-MS	BM literatur	Peak Area %
1	2.272	3-Hexanol,4-methyl-(CAS)	C ₇ H ₁₆ O	87.00	116.20	9.56
2	2.399	3-Pentanol, 3-methyl-(CAS)	C ₆ H ₁₄ O	87.00	102.77	22.76
3	2.521	ETHANAL-N-METHYL-N-FORMYLHYDRAZONE	C ₄ H ₁₂ N ₂ O	100.00	100.12	9.29
4	2.590	Oxirane, 2-methyl-3-propyl-,cis- (CAS)	C ₆ H ₁₂ O	100.00	100.16	10.80
5	2.759	1-Methyl-1-cyclopentanol	C ₆ H ₁₂ O	100.00	100.16	42.97
6	2.976	Butanal, 3-methyl-(CAS)	C ₅ H ₁₀ O	86.00	87.13	2.19
7	3.002	Tetrahydroxycyclopentadienone	C ₅ H ₄ O ₅	129.00	114.08	2.18
8	10.845	Phenol, bis(1,1 – dimethylethyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	206.00	206.33	0.25

Terdapat perbedaan hasil kandungan senyawa metabolit sekunder dari fraksi heksana yang diuji dengan skrining fitokimia dengan analisis Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa, hal ini dapat disebabkan karena pada uji dengan skrining fitokimia, uji tersebut sifatnya adalah kualitatif. Sedangkan dengan analisis Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa sifatnya adalah kuantitatif, hasil uji yang dianalisis dengan suatu instrument akan lebih tepat daripada di uji dengan skrining fitokimia. Selain itu, analisis dengan GC-MS telah banyak di gunakan dalam mengidentifikasi ratusan komponen senyawa yang ada di dalam sel tanaman yang tidak mampu dilakukan dengan skrining fitokimia biasa karena skrining terbatas pada identifikasi golongan senyawa (Doughari James Hamuel,2012).

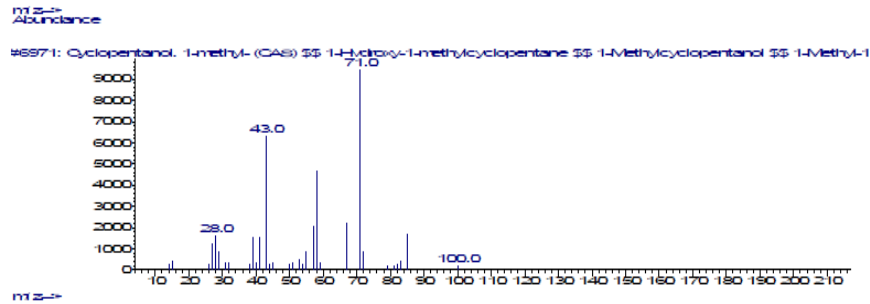


Gambar 3. Kromatogram GC-MS Fraksi Heksana Kulit Batang *R.mucronata*

Seminar Nasional Kelautan XIII

" Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir dalam Rangka Mencapai Kemandirian Ekonomi Nasional "

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 12 Juli 2018



Gambar 4. Kromatogram GC-MS senyawa dengan peak tertinggi Fraksi Heksana Kulit Batang *R.mucronata*

Hasil dari penelitian ini dapat mengetahui prosentase kematian larva instar III *Aedes aegypti* terhadap pemberian fraksi heksana ekstrak metanol *Rhizophora mucronata* dengan berbagai konsentrasi yang ditentukan dengan LC_{50} (*Lethal concentration*).

Prosentase kematian larva instar III *Aedes aegypti* terhadap pemberian fraksi heksana ekstrak metanol *R. mucronata* dibagi menjadi beberapa perlakuan berdasarkan konsentrasi yang berbeda dan juga terdapat perlakuan dengan kelompok blanko yang diamati selama 6, 18, 24 dan 48 jam.

Tabel 3. menunjukkan % mortalitas pada berbagai perlakuan kelompok dan selama 6 sampai 48 jam. Peningkatan jumlah kematian larva instar III *Aedes aegypti* terdapat pada 24 dan 48 jam. Didapatkan hasil LC_{50} selama 48 jam adalah sebesar 78819,5 ppm dan termasuk dalam kategori tidak toksik.

Kategori toksisitas berdasarkan nilai LC_{50}

kategori	LC_{50} (ug/ml)
Sangattoksik	<30
Toksik	30-100
Tidaktoksik	>1000

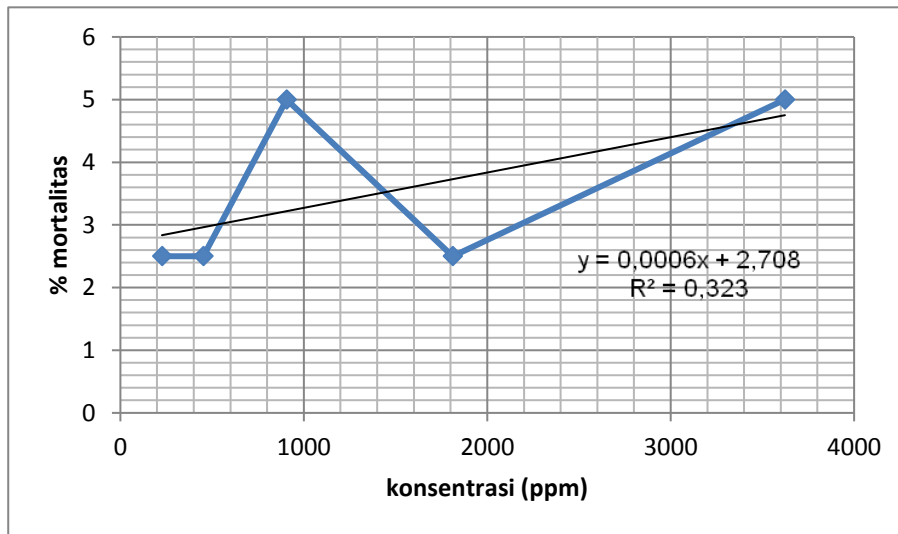
Tabel 3. Hasil uji larvasida konsentrasi terhadap % mortalitas

Konsentrasi	Jumlah larva yang mati				%mortalitas
	6 jam	18 jam	24 jam	48 jam	
226.425 replikasi 1	0	0	0	1	2,5
226.425 replikasi 2	0	0	0	0	
452.85 replikasi 1	0	0	0	0	2,5
452.85 replikasi 2	1	1	1	1	
905.7 replikasi 1	0	0	0	0	5
905.7 replikasi2	1	2	2	2	
1811.4 replikasi 1	0	0	0	1	2,5
1811.4 replikasi2	0	0	0	0	
3622.8 replikasi 1	0	0	0	0	5
3622.8 replikasi2	1	2	2	2	

Seminar Nasional Kelautan XIII

" Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir dalam Rangka Mencapai Kemandirian Ekonomi Nasional "

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 12 Juli 2018

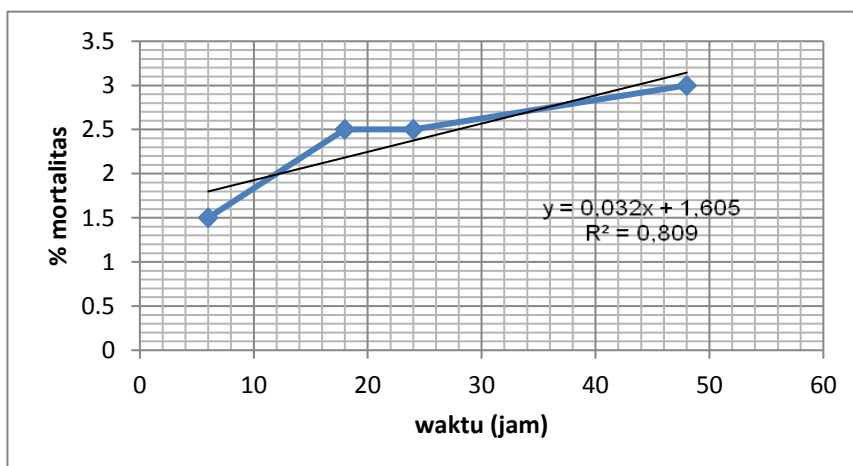


Gambar 5. Grafik konsentrasi terhadap % mortalitas

Tabel 4. Menunjukkan hasil perhitungan bahwa nilai LT_{50} sebesar 1512 jam

Tabel 4. Hasil uji larvasida waktu terhadap % mortalitas

Waktu	% Mortalitas pada konsentrasi					Rerata % mortalitas
	226,425	452,85	905,7	1811,4	3622,8	
6	0	2,5	2,5	0	2,5	1,5
18	0	2,5	5	0	5	2,5
42	0	2,5	5	0	5	2,5
48	0	2,5	5	2,5	5	3



Gambar 6. Grafik waktu terhadap % mortalitas

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan hasil kandungan senyawa metabolit sekunder dari fraksi heksana yang diuji dengan skrining fitokimia dengan analisis Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa, hal ini dapat disebabkan karena pada uji dengan skrining fitokimia, uji tersebut sifatnya adalah kualitatif. Nilai LC₅₀ fraksi heksana kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap larva instar III *Aedes aegypti* selama 48 jam sebesar 78819,5 ppm yang masuk ke dalam kategori tidak toksik dan memiliki nilai LT₅₀ sebesar 1512 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali M Syed, S.Ravikumar, J. Margaret Beula, V. Anuradha and N. Yogananth. 2014. *Insecticidal compounds from Rhizophoraceae mangrove plants for themanagement of dengue vector Aedes aegypti*. Journal of Vector Borne Dis 51.
- Andriani Lili, Yulianis dan Nela Sukmawati. 2015. *Uji aktivitas Larvasida terhadap Culex sp dan Aedes sp dari Ekstrak Daun Alpukat*. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik ke V bulan November.
- Desiyamani P, M Syed Ali, V Anuradha, N Yogananth dan J.Chitra. 2017. *Mosquito Larvacidal Activity of Fractionated Methanolic Extract of Rhizophora mucronata Stilt Root and Sesuvium portulacastrum against Dengue Larvae*. Journal of Mosquito Research Volume 7 Number 14 page 111-114.
- Doughari James Hamuel. 2012. *Phytochemicals : Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Department of Microbiology School of Pure and Applied Sciences, Federal University of Technology Yola, Nigeria.
- Harborne, J.B. 1973. *Phytochemical Methods*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Karenina Anna, John Raffy and Tiffany Rose. 2016. *Mangrove (Rhizophora mucronata) leaf extracts as Larvacidal Agents for Mosquito Population*. A Research Proposal April.
- Kristanti Alfinda Novi, Nanik Siti Aminah, Mulyadi Tanjung dan Bambang Kurniadi. 2008. *Buku ajar Fitokimia*. Laboratorium Kimia Organik-Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Muzaki Farid Kamal, Dian Saptarini, N Dwianita Kuswytasari dan Aries Sulisetyono. 2012. *Menjelajah Mangrove Surabaya*. Pusat Studi Kelautan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya
- Rossiana, N. 2006. *Uji Toksisitas Limbah Cair Tahu Sumedang Terhadap Reproduksi Daphnia carinata* King. Laporan Penelitian. Universitas Padjajaran