

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL KELAKAI
(*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

Dwi Prahesty Septheresia Enus Mebas¹, Agung Biworo², Erida Wydiamala³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat
Banjarmasin, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat
Banjarmasin, Indonesia

³Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin, Indonesia

Email koresspondensi: yafetdwi@gmail.com

Abstract: *Kelakai (Stenochlaena palustris (Burm. F.) Bedd) has potential secondary metabolites potentially as larvacide. The purpose of this research is to know the efectivy of larvacide kelakai ethanolic extract. The research is experimental with posttest only with control group design, consist of seven group and four replication. Seven group were obtained from preliminary test: 312,5 miligram/L; 625 miligram/L; 1250 miligram/L; 2500 miligram/L; 5000 miligram/L; 10.000 miligram/L; 20.000 miligram/L, negative control (water) and positive control (temephos 10.000 mg/L). The analysis probit LC₅₀ and LC₉₀ are 0,078% - 0,136% (780 miligram/L - 1.360 miligram/L). Kruskal – Wallis test obtained p=0,000, there's kelakai ethanolic extract influence to Aedes aegypti larvae. Mann – Whitney test obtained p=1.000, there's no difference between 5000 – 20.000 (miligram/L) and positive control. In conclusion, kelakai ethanolic extract has efectivity at concentration 5000 – 20.000 (miligram/L) to equal as temephos 1% to Aedes aegypti larvae.*

Keywords: *larvacide, kelakai, Aedes aegypti*

Abstrak: *Kelakai (Stenochlaena palustris (Burm. F.) Bedd) mempunyai metabolit sekunder yang berpotensi menjadi larvasida. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol kelakai sebagai larvasida. Rancangan penelitian eksperimental dengan posttest only with control group design, dengan 7 kelompok perlakuan serta empat replikasi. 7 kelompok perlakuan diperoleh dari uji pendahuluan: 312,5 miligram/L, 625 miligram/L, 1250 miligram/L, 2500 miligram/L, 5000 miligram/L, 10.000 miligram/L, 20.000 miligram/L, kontrol negatif (air), dan kontrol positif (temefos 10.000 miligram/L). Dari analisis probit dihasilkan LC₅₀ dan LC₉₀ sebesar 0,078% - 0,136% (780 miligram/L - 1.360 miligram/L). Uji Kruskal – Wallis diperoleh nilai p=0,000, memiliki pengaruh ekstrak etanol kelakai terhadap larva Aedes aegypti. Dari uji Mann – Whitney dihasilkan nilai p=1.000, tidak ada perbedaan yang jauh antara 5000 – 20.000 (miligram/L) dengan kontrol positif. Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak etanol kelakai mempunyai efektivitas pada konsentrasi 5000 – 20.000 (miligram/L) yang setara dengan temefos 1% terhadap larva Aedes aegypti.*

Kata – kata kunci : Larvasida, kelakai, *Aedes aegypti*

PENDAHULUAN

Demam berdarah *dengue* (DBD) merupakan penyakit yang diakibatkan oleh virus *dengue* (DENV). Vektor dari penyakit demam berdarah adalah nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama. Penyakit ini ditemukan didaerah tropis dan subtropis di seluruh dunia. Untuk Indonesia dengan iklim tropis sangat cocok untuk tempat berkembangnya nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor primer DBD di sekitar permukiman penduduk.^{1,2}

Penyakit DBD telah menjadi salah satu penyakit berbahaya dari tahun 2013 di Indonesia. Total meninggal disebabkan oleh DBD tahun 2017 adalah 493 orang dengan 68.407 yang tercatat. Nilai *Incidence Rate* (IR) di Indonesia tahun 2017 sebesar 26,12 per 100.000 penduduk dan *Case Fatality Rate* (CFR) 0,72%. Jumlah kejadian yang tercatat pada tahun 2018 adalah 65.602 kasus serta jumlah kasus meninggal sebanyak 467 orang menurun dibandingkan tahun sebelumnya.^{3,4}

Salah satu tumbuhan yang dapat dikembangkan sebagai larvasida adalah kelakai. Tumbuhan ini banyak di temukan di daerah Kalimantan. Penduduk Kalimantan menggunakan kelakai sebagai obat dan pelengkap makanan. Tumbuhan ini mempunyai senyawa bioaktif yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin.¹⁰ Pada penelitian Hakim, ekstrak kelakai pada daun memiliki kandungan flavonoid sebesar $2,2159 \pm 0,083\%$.⁵

Uji toksisitas adalah melihat respon kematian pada hewan percobaan yang terpapar dengan ekstrak tanaman dengan berbagai konsentrasi. Berdasarkan penelitian Battu, ekstrak etanol kelakai mempunyai toksisitas dengan LC_{50} larva *Artemia salina* Leach BSLT yaitu 437,2 $\mu\text{g/mL}$.⁶ Sesuai studi Meyer, senyawa kimia berpotensi aktif jika memiliki $LC_{50} > 1.000 \mu\text{g/mL}$.⁷

METODE

Penelitian ini menggunakan *True experimental* dengan metode *Posttest Only Control Group Design* dengan satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok positif dan tujuh kelompok yang diberikan perlakuan dengan konsentrasi 312,5 miligram/L, 625 miligram/L, 1250 miligram/L, 2500 miligram/L, 5000 miligram/L, 10.000 miligram/L, dan 20.000 miligram/L. Berdasarkan rumus *Federrer*, akan dilakukan empat kali replikasi (n_1, n_2, n_3, n_4). Pada kelompok kontrol positif menggunakan Temefos 1% dan pada kelompok kontrol negatif menggunakan aquades. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi FK ULM Banjarmasin untuk pengujian larvasida. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2020.

Subjek penelitian ini ialah larva *Aedes aegypti* L. Instar III tidak terkontaminasi virus *dengue* dan diperoleh dari telur *Ae. aegypti* yang dikembangkan di Laboratorium Parasitologi FK ULM Banjarmasin. Telur diperoleh dari Laboratorium Entomologi FKH IPB.

Instrumen yang digunakan adalah kelakai yang diambil dari daerah Kapuas, Kalimantan Tengah dan determinasi dilakukan di Laboratorium FMIPA Banjarbaru, etanol 70%, serbuk hati untuk pakan larva, aquades, bak plastik, gelas plastik, pipet, batang pengaduk, kain, gelas ukur $\pm 200 \text{ ml}$, dan timbangan digital *Gibertini*.

Variabel bebas yang perlu diperhatikan di penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd).

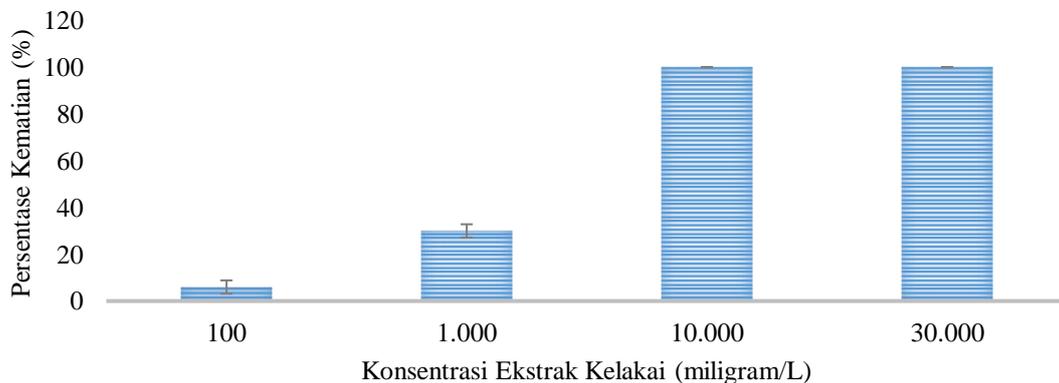
Prosedur pada penelitian ini adalah mulai dari pembuatan ekstrak kelakai dilakukan dengan metode maserasi. Diawali dengan melakukan pengeringan dibawah sinar matahari dan dihaluskan dengan blender sehingga menjadi bubuk. Setelah itu ditimbang menghasilkan 800 gram yang dicampur dengan etanol 70% dengan menggunakan metode maserasi. Sehingga menghasilkan ekstrak hijau tua

yang kental dan berbau khas dengan berat 38 gram. Kemudian, ekstrak diencerkan sesuai konsentrasi dan dibuat dengan volume 100 ml. Rentang konsentrasi uji lanjutan yaitu 312,5 miligram/L, 625 miligram/L, 1250 miligram/L, 2500 miligram/L, 5000 miligram/L, 10.000 miligram/L, dan 20.000 miligram/L yang ditentukan dari uji pendahuluan. Telur nyamuk yang sudah memasuki larva instar III diambil masing – masing 25 larva untuk dimasukkan ke konsentrasi yang diujikan. Data didapatkan dengan perhitungan jumlah kematian larva uji di tiap – tiap perlakuan. Penelitian ini dilakukan selama 48 jam.

Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan probit untuk *Lethal Concentration* 50 dan *Lethal Concentration* 90. Dilanjutkan uji statistik untuk mengetahui efektivitas bahan uji yaitu uji Kruskal – Wallis dan post hoc test menggunakan Mann-Whitney

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada uji pendahuluan yang dilakukan untuk menentukan rentang konsentrasi yang efektif membunuh larva dilakukan pengamatan efek pemaparan dilakukan setelah 48 jam. Hasil uji pendahuluan berupa rerata persentase dari kematian larva ditunjukkan pada gambar 1.

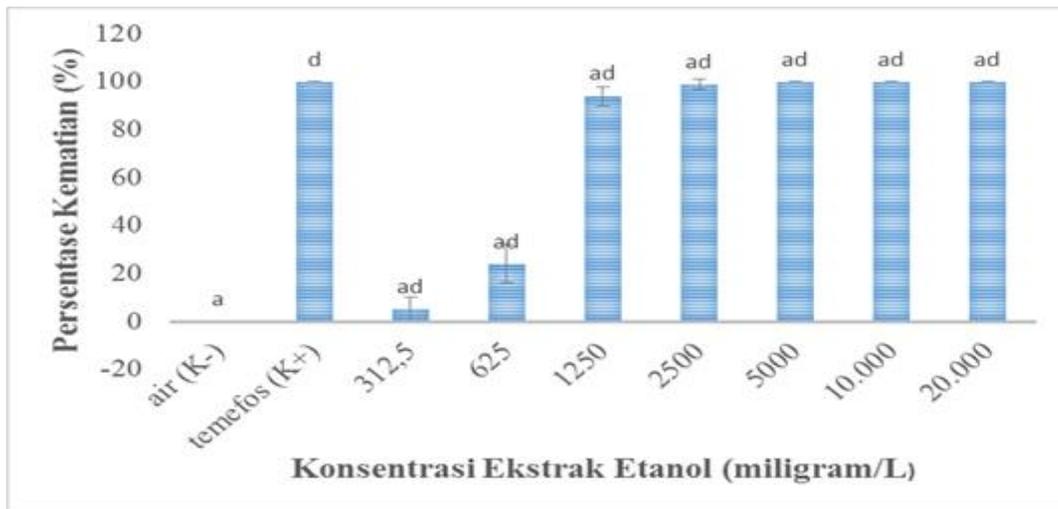


Gambar 1. Rata – rata persentase kematian Larva *Aedes aegypti* setelah 48 jam yang diberikan Ekstrak Etanol Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) setelah 48 jam dalam uji pendahuluan. Semua nilai rerata persentase dari dua pengulangan \pm standar deviasi.

Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) menyebabkan kematian minimal pada 100 mg/L yaitu 6% dengan dan menyebabkan kematian maksimal pada 10.000 mg/L dan 30.000 mg/L yaitu 100%. Rentang konsentrasi yang digunakan untuk uji lanjutan adalah konsentrasi efektif untuk membunuh larva berdasarkan uji pendahuluan. Rentang konsentrasi uji

lanjutannya adalah 312,5 miligram/L, 625 miligram/L, 1250 miligram/L, 2500 miligram/L, 5000 miligram/L, 10.000 miligram/L, dan 20.000 miligram/L.

Pada penelitian lanjutan, pengamatan dan perhitungan jumlah kematian larva dilakukan setelah paparan 48 jam. Hasil dari penelitian aktivitas larvasida ekstrak etanol kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) terhadap larva *Aedes aegypti* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Kelakai pada Larva *Aedes aegypti* selama 48 jam. Data Rerata \pm SD (n=4). Data disajikan dengan nilai dari Uji *post-hoc* Mann-Whitney (a jika nilai $<0,05$ dengan kontrol negatif dan d jika Nilai $p < 0,05$ dengan Kontrol Positif). Semua nilai rerata persentase dari empat pengulangan \pm standar deviasi.

Pada Gambar 2, kelompok kontrol negatif setelah paparan selama 48 jam tidak ada kematian larva, sehingga penelitian ini hanya dipengaruhi oleh pemberian larvasida. Pada kontrol positif dengan pemberian temefos 1% setelah paparan selama 48 jam terdapat kematian larva 100%. Pada konsentrasi terendah setelah paparan selama 48 jam yaitu 312,5 miligram/L terdapat rata - rata 5% larva mati. Pada konsentrasi 625 miligram/L terdapat rata - rata 24% larva mati. Pada konsentrasi 1.250 miligram/L setelah paparan selama 48 jam terdapat rata - rata 94% larva mati. Pada konsentrasi 2.500 miligram/L terdapat kematian larva rata - rata 99%. Pada konsentrasi 5.000 miligram/L, 10.000 miligram/L, dan 20.000 miligram/L terdapat 100% larva mati.

Dari hasil pengamatan dan perhitungan data, terjadi peningkatan kematian larva pada setiap kenaikan konsentrasi ekstrak etanol kelakai yang digunakan. Menurut Sudarmadji, dkk dalam Dwiwahyuni (2011) menjelaskan semakin terkonsentrasi dalam konsentrasi larutan, semakin besar isi bahan aktif yang terkandung di dalamnya, yang mengakibatkan terjadinya gangguan

metabolisme dalam tubuh serangga sehingga serangga dapat mengalami kematian.⁸

Pada penelitian Suling L, dkk. (2020) didapatkan jumlah kematian larva yang tertinggi yaitu konsentrasi 0,5% sebanyak 43 larva (43%), Sementara pada konsentrasi 1% hanya mampu menyebabkan kematian 7 larva (7%). Hal ini mungkin disebabkan karena pada penelitian Suling L dkk larva saat dilakukan uji diberikan makan sementara pada penelitian ini, selama melakukan uji larva tidak diberikan makan.⁹

Faktor pemberian makan selama uji 24 jam pada penelitian Suling L dkk, didasarkan pada pedomannya yaitu WHO *Guidelines for Laboratory Testing and Field on Mosquito Larvisida* yang dikatakan tidak boleh dilakukan dalam tes dengan durasi 24 jam. Sementara pada penelitian ini dilakukan selama 48 jam dengan tidak diberikan makan pada larva. Dan juga toksisitas larvasida ditentukan oleh dosis dan paparan yang lama. Selain itu, bisa disebabkan karena penyimpanan ekstrak etanol kelakai yang digunakan. Menurut Aprilina dkk (2017) pada penyimpanan larvasida diperkirakan zat aktif dari senyawa akan dipengaruhi oleh

faktor luar seperti suhu, cahaya, dan kelembapan udara sementara faktor dalam yang mempengaruhi adalah reaksi kimia dan perubahan enzimatik.^{10,11}

Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji probit dengan SPSS

untuk mengetahui nilai LC_{50} dan LC_{90} pada ekstrak etanol menggunakan larva *Aedes aegypti* dari hasil ujian tidak mungkin nilai LC_{50} dan LC_{90} diilustrasikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Nilai LC_{50} dan LC_{90} pada uji aktivitas ekstrak etanol kelakai sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

<i>Lethal concentration</i>	48 jam		
	<i>Estimate</i>	<i>Lower bound</i>	<i>Upper bound</i>
LC_{50}	0,078	0,069	0,087
LC_{90}	0,136	0,121	0,162

Confidence Limits = 95% Kedalaman air = 7 cm

Berdasarkan tabel 1, nilai LC_{50} pada paparan 48 jam memiliki konsentrasi rata – rata sebesar 0,078% (780 miligram/L) dengan kisaran konsentrasi 0,069% - 0,087% (690 - 870 miligram/L). Sedangkan nilai LC_{90} memiliki konsentrasi rata – rata sebesar 0,136% (1.360 miligram/L) dengan rentang konsentrasi 0,121% - 0,162% (1.210 – 1.620 miligram/L). Berdasarkan studi oleh Meyer, dikatakan bahwa senyawa kimia memiliki potensi toksik jika memiliki LC_{50} lebih sedikit daripada 1.000 ppm.

Pada analisis statistik uji normalitas *shapiro-wilk* pada paparan 48 jam dihasilkan nilai $p=0,000$ ($p>0,05$) dan uji homogenitas *levane test* dihasilkan nilai $p=0,003$ ($p>0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, data tidak terdistribusi normal sehingga wajib untuk melakukan uji kruskal – wallis. Hasil dari uji *Kruskal – Wallis* didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), memiliki perbedaan bermakna persentasi kematian larva pada setiap perlakuan. Dilakukan uji *post hoc Mann-whitney*.

Hasil dari uji *post hoc Mann-whitney*, kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan konsentrasi 312,5 mg/L, 625 mg/L, 1250 mg/L, dan 2500 mg/L tidak bermakna. Sementara pada konsentrasi 5000 mg/L, 10.000 mg/L, dan 20.000 mg/L bermakna dengan nilai signifikansi $p<0,05$ yang artinya memiliki aktivitas larvasida. Untuk kelompok kontrol positif

dibandingkan dengan konsentrasi 312,5 miligram/L, 625 miligram/L, 1.250 miligram/L, 2.500 miligram/L, 5.000 miligram/L, 10.000 miligram /L, dan 20.000 miligram/L bermakna terhadap kontrol positif. Dengan ini dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki efektivitas yang setara dengan temefos 1%.

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi ekstrak etanol kelakai pada konsentrasi 5000 miligram/L sampai dengan 20.000 miligram/L mampu membunuh larva *Aedes aegypti*. Ini berarti bahwa ekstrak etanol kelakai memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Terjadinya kematian larva dikarenakan kandungan senyawa kimia pada kelakai yang berpotensi sebagai larvasida. Dari hasil uji fitokimia pada penelitian Suling L dkk (2020) kelakai memiliki beberapa senyawa metabolit seperti saponin, alkaloid, tanin, flavonoid dan steroid. Menurut Chear dkk (2016) senyawa flavonoid yang terkandung didalam daun kelakai sebesar 503,56 mg QE/g, alkaloid sebesar 11,56%, tanin sebesar 8,06%, dan steroid sebesar 3,43%.^{9,12}

Flavonoid adalah senyawa toksik untuk sistem pernapasan larva. Dari golongan flavonoid, yaitu rotenon dari anggota senyawa isoflavon yang ada didalamnya mudah masuk ke dalam siphon saat ada dipermukaan air dan kutikula

yang merusak membran. Menurut Hapsuri dkk (2012) flavonoid bekerja dengan menghambat enzim pernafasan antara NAD⁺ hingga terjadi kegagalan fungsi bernafas. Flavonoid juga memiliki pengaruh terhadap perkembangan larva sehingga larva akan tetap muda karena adanya pengaruh hormon juveline.^{11,13,14}

Alkaloid adalah senyawa sekunder, memiliki struktur dasar dalam bentuk basis nitrogen, yaitu satu atau dua nitrogen. Menurut Hapsari (2012) senyawa alkaloid bekerja dengan cara melalui penyerapan larva dan merusak membran kulit kemudian menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase yang akan mempengaruhi transmisi kerja saraf sehingga enzim terfosforilasi dan tidak aktif. Menurut Cania dkk (2013) alkaloid menyebabkan perubahan warna terhadap larva sehingga terlihat bening. Pada penelitian ini, terjadi perubahan warna pada larva yaitu larva terlihat bening.^{13,15}

Saponin adalah senyawa yang dapat menyebabkan toksik perut dan pernafasan pada larva. Saponin mampu merusak membran sel karena dapat berikatan dengan protein dan lipid yang membentuk membran sel tersebut sehingga mengakibatkan dinding pencernaan larva menjadi rusak. Pada pernafasan menyebabkan kemampuan untuk menutup spirakel saat menyelam berkurang sehingga air terus masuk. Maka ketika larva melakukan respirasi terjadi kegagalan karena adanya air di saluran pernafasan menyebabkan kematian pada larva. Steroid dapat menyebabkan molting pada larva. Sementara, senyawa tanin dapat menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan, mengganggu nutrisi dari larva, dan gangguan otot pada larva.

Keterbatasan penelitian ini adalah telur *Aedes aegypti* yang tidak dapat menetas karena disimpan terlalu lama pada suhu yang rendah sehingga harus membeli telur yang baru dan kondisi larva yang digunakan dari segi ketahanan dan kesehatan larva tersebut.

PENUTUP

Disimpulkan bahwa ekstrak etanol kelakai memiliki efektivitas pada konsentrasi 5000 - 20.000 (miligram/L) yang setara dengan temefos 1% terhadap larva *Aedes aegypti*.

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian formula untuk mengubah warna dan bau kelakai agar dapat digunakan sebagai larvasida dan perlu dilakukan uji fraksinasi pada ekstrak etanol kelakai.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Litbang Kemenkes RI. Sekapur sirih riset khusus vektor dan reservoir penyakit (rikhus vektora) : Pokok-pokok hasil uji coba. 2014.
2. Simmons CP, Farrar JJ, Chau NVV, Wils B. Dengue. N Engl J Med. 2012; 366: 1423-32.
3. Kementerian Kesehatan RI. Situasi penyakit demam berdarah di Indonesia. Infodatin Kementerian Kesehatan RI. 2017.
4. Setiawan E, Karimuna SR, Jafriati. Efektifitas ekstrak biji sirsak (*Annona muricata L*) sebagai insektisida alami terhadap nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor DBD. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Halu Oleo; 2016.
5. Hakim YY. Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol daun kelakai (*Stenochlanena palustris* (burm.f.) bedd.) dengan metode spektrofotometri uv-vis. DIII Farmasi: Akademi Farmasi Samarinda. 2017.
6. Battu N. Uji toksisitas akut ekstrak terpurifikasi daun kelakai (*Stenochlanae palustris* (Burm. F.) Bedd.) terhadap larva *Artemia salina* LEACH dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT) [skripsi]. Akademi Farmasi Samarinda. 2018.
7. Anggraeni D, Erwin. Uji fitokimia dan uji toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris*). Universitas Mulawarman. Samarinda. 2015.

8. Dwiwahyuni. Pengendalian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan hewan predator. Sainfika J Ilmu Pendidikan FMIPA. 2011; 11(2): 225-36.
9. Suling L, dkk. uji daya bunuh ekstrak etanol 70% kelakai (*Stenochlaena palustris* (burm. f.) bedd) terhadap larva instar iii *Aedes aegypti*. Herb-Medicine Journal. 2020; 3(1).
10. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: World Health Organization Communicable. 2013.
11. Aprilani DA. Pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun kenikil (*Cosmos caudatus*) sebagai insektisida nyamuk *Aedes aegypti* melalui metode semprot [skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya. 2017
12. Chear NCY, Khaw KY, Murugaiyah V, Lai CS. Cholinesterase inhibitory activity and chemical constituents of *Stenochlaena palustris* fronds at two different stages of maturity. Journal of Food and Drug Analysis. 2016; 24:363.
13. Hapsari AO, Suwondo, Febrita E. Efektivitas ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. Repository Universitas Riau. 2012.
14. Francis S, Crawford J, McKenzie S, et al. Comparative toxicity of larvicides and growth inhibitors on *Aedes aegypti* from select areas in jamaica. The Royal Society. 2020; 63-70.
15. Cania BE, setyaningrum E. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Medical Journal of Lampung University. 2013; 2(4): 54-60.

