

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*), JERUK LIMAU (*Citrus amblycarpa*), DAN JERUK BALI (*Citrus maxima*) TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Effectivity of Kaffir lime (Citrus hystrix), Nasnaran Mandarin (Citrus amblycarpa), and Pomelo (Citrus maxima) Leaf Extract Against Aedes aegypti Larvae

Hebert Adrianto^{1*}, Subagyo Yotopranoto^{2,3}, Hamidah⁴

¹Ilmu Kedokteran Tropis, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Kampus A, Jln. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya, 60131, Indonesia

²Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Kampus A, Jln. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya, 60131, Indonesia

³Institute Tropical Disease, Universitas Airlangga, Kampus C, Jln. Mulyorejo, Surabaya, 60115, Indonesia

⁴Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Kampus C, Jln. Mulyorejo, Surabaya, 60115, Indonesia

Abstract. *The used of chemicals as larvicidal may causing resistance, health problem, and environment problem. Leaf extracts of Citrus as biolarvicidal against Aedes aegypti larvae can be used as an alternative larvicidal. The aims of this study is to find out the species of Citrus in the study sample, which is the most effective as biolarvicidal. This study was conducted using nested experiment design, with six treatments and five replicates. Larvae mortality was observed after 24 and 48 hours. Then, data were analyzed by probit. The results of this study show that (1) the LC₉₅ value after 24 hours of exposure of leaf extracts of Citrus hystrix, Citrus amblycarpa, and Citrus maxima, were each 3,176 ppm; 4,174 ppm; and 6,369 ppm. (2) the LC₉₅ value after 48 hours of exposure of leaf extracts of Citrus hystrix, Citrus amblycarpa, and Citrus maxima, were each 2,499 ppm; 3,256 ppm; and 4,886 ppm. (3) leaf extract of Citrus hystrix is the most effective among others as biolarvicidal against Aedes aegypti larvae. Leaf extract of Citrus hystrix can be used as alternative biolarvicidal.*

Keywords: Citrus hystrix, Citrus amblycarpa, Citrus maxima, Aedes aegypti, biolarvicidal

Abstrak. Penggunaan bahan kimia sebagai larvasida telah menimbulkan resistensi, masalah kesehatan, dan masalah lingkungan. Ekstrak dari daun jeruk sebagai biolarvasida *Aedes aegypti* dapat digunakan sebagai alternatif larvasida. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui spesies jeruk dari penelitian ini yang paling efektif sebagai biolarvasida *Aedes aegypti*. Penelitian eksperimen menggunakan metode rancangan nested dengan enam konsentrasi dan lima kali ulangan. Kematian larva dihitung setelah 24 dan 48 jam. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan probit. Hasil penelitian menunjukkan (1) LC₉₅ 24 jam dari ekstrak daun *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, dan *Citrus maxima*, yaitu masing-masing 3.176 ppm, 4.174 ppm, dan 6.369 ppm. (2) LC₉₅ 48 jam dari ekstrak daun *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, dan *Citrus maxima*, yaitu masing-masing 2.499 ppm, 3.256 ppm, dan 4.886 ppm. (3) Ekstrak daun Citrus hystrix paling efektif sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dibandingkan ekstrak jeruk lainnya. Ekstrak daun *Citrus hystrix* dapat dijadikan bahan alternatif biolarvasida.

Kata Kunci: *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, *Citrus maxima*, *Aedes aegypti*, biolarvasida

Naskah masuk: 01-02-2014 | Revisi: 14-03-2014 | Layak terbit: 26-03-2014

* Alamat korespondensi: hebertadrian57@yahoo.co.id; Tel.: 085730474165

LATAR BELAKANG

Indonesia adalah salah satu negara tropis yang paling besar di dunia. Iklim tropis menyebabkan adanya berbagai penyakit tropis yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*, salah satunya Demam Berdarah Dengue (DBD). DBD menjadi penyebab utama banyaknya rawat inap di rumah sakit. Penyebab utama munculnya epidemi penyakit tersebut adalah perkembangbiakan dan penyebaran nyamuk sebagai vektor penyakit yang tidak terkendali.¹

Pencegahan DBD sampai saat ini masih diutamakan pada pengendalian vektor karena masih belum tersedia vaksin dan obat antivirus yang efektif. Pengendalian vektor yang paling efektif adalah dengan pemberantasan larva. Pestisida yang digunakan untuk mengendalikan larva *Ae. aegypti*, yaitu temephos (organophosphat).² Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mulyatno *et al.* telah terjadi resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap temephos di tiga kecamatan di Surabaya.² Hasil yang sama juga ditemukan di Argentina.³ Kandungan kimia sintetik dalam temephos dalam jangka waktu lama menyebabkan kanker.⁴ Larvasida temephos dapat masuk ke rantai makanan dan terakumulasi dalam tubuh makhluk hidup.⁵ Terkait kondisi ini memunculkan penelitian baru dalam pengendalian vektor yang lebih aman, sederhana, dan ramah lingkungan, yaitu pengendalian dengan menggunakan larvasida hayati yang berbahan dasar dari tumbuhan.

Citrus atau yang dikenal dengan jeruk adalah salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung vitamin C dan dibuat penyedap masakan.⁶ Daun jeruk mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan steroid.^{7,8} Senyawa-senyawa ini bekerja sebagai racun pada larva nyamuk baik sebagai racun kontak maupun racun perut. Chutia *et al.* menyebutkan bahwa genus Citrus,

atau yang lebih dikenal dengan jeruk telah teridentifikasi ada 16 spesies.⁹ Penelitian eksperimen ini penting dilakukan untuk mendapatkan informasi dasar spesies Citrus tertentu yang efektif menjadi biolarvasida, mengingat banyaknya spesies Citrus. Tujuan dari penelitian ini untuk melihat sampel spesies jeruk dari penelitian ini yang paling efektif sebagai biolarvasida *Ae. aegypti* dengan melihat nilai letal konsentrasi 95% (LC_{95} /Lethal Concentration 95%). Harapannya, ekstrak daun jeruk ini dapat menjadi salah satu alternatif biolarvasida *Ae. aegypti* yang lebih aman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah diuji kelayakan etikanya di unit bioetik Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya dengan nomor: 173/EC/KEPK/FKUA/2014. Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan metode rancangan *nested* yang dilakukan di Laboratorium *Basic Science* Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Larva uji merupakan larva *Ae. aegypti* yang dipelihara di Laboratorium Entomologi, Institute Tropical Disease Universitas Airlangga Surabaya. Instar larva yang diuji adalah instar III.

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap, yaitu tahap koleksi daun (*Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, dan *Citrus maxima*), pembuatan ekstrak daun, kolonisasi larva uji, dan uji hayati. Koleksi daun jeruk dilakukan di kota Sidoarjo kemudian dikeringanginkan selama satu bulan lalu dibuat serbuk. Serbuk daun kering sebanyak 800 g dimaserasi dengan pelarut metanol selama seminggu. Setelah satu minggu, maserat disaring dan diuapkan dengan alat rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak. Uji utama dilakukan setelah didapatkan konsentrasi letal terendah (LC_5) dan konsentrasi letal tertinggi (LC_{95}) dari uji pendahuluan, kemudian menentukan tiga konsentrasi

di antara LC_5 dan LC_{95} . Masing-masing konsentrasi (enam konsentrasi yang telah ditentukan) dilakukan uji sesungguhnya dengan lima kali pengulangan. Selanjutnya dibuat larutan dari masing-masing ekstrak daun *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, dan *Citrus maxima* sesuai konsentrasi yang telah ditentukan. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang terlebih dahulu dalam (mg) sesuai yang diperlukan kemudian dilarutkan dengan lima tetes tween 20 sebelum dilarutkan dengan air akuades supaya ekstrak tersebut tidak membentuk gumpalan-gumpalan saat pemberian air akuades. Selain itu, pada kelompok kontrol menggunakan air akuades dan juga ditambahkan lima tetes tween 20, agar semua larutan ekstrak maupun kontrol sama-sama mengandung tween 20 serta tidak memberikan kesan kematian larva disebabkan oleh tween 20. Masing-masing larutan ekstrak diukur volumenya, yaitu sebanyak 100 ml dan ditempatkan dalam gelas plastik transparan. Selanjutnya dimasukkan 20 ekor larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* ke dalam masing-masing gelas. Kemudian dilakukan pendedahan selama 24 jam, setelah itu larva yang mati dihitung dan dicatat, lalu didedahkan lagi selama 24 jam berikutnya, larva yang mati dihitung dan kemudian dicatat lagi. Data kematian 24 dan 48 jam dianalisis dengan software SPSS versi 16.0 dengan analisis probit.

HASIL

Hasil uji aktivitas biolarvasida berbagai konsentrasi ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix*), jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), dan jeruk bali (*Citrus maxima*) dianalisis dengan software SPSS 16.0 analisis probit. Ekstrak daun *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, dan *Citrus maxima* menunjukkan aktivitas sebagai biolarvasida. Nilai Konsentrasi letal (*Lethal Concentration/ LC*) setelah 24 dan 48 jam pada masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Konsentrasi Letal (LC_{95}) setelah 24 dan 48 jam

Sampel ekstrak uji	LC_{95}	LC_{95}
	(ppm) 24 jam	(ppm) 48 jam
<i>Citrus hystrix</i>	3.176	2.499
<i>Citrus amblycarpa</i>	4.174	3.256
<i>Citrus maxima</i>	6.369	4.886

Ekstrak daun *Citrus hystrix* terbukti menjadi ekstrak yang paling aktif dikarenakan mempunyai kemampuan membunuh 95% larva *Ae. aegypti* instar III pada konsentrasi paling kecil dibandingkan ekstrak lainnya, yaitu 3.176 ppm setelah 24 jam pendedahan dan 2.499 ppm setelah 48 jam pendedahan. Ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki LC yang paling tinggi di antara dua ekstrak lainnya, ini berarti semakin banyak ekstrak yang dibutuhkan untuk membunuh 95% larva *Ae. aegypti*.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak daun tiga jenis jeruk, yaitu jeruk purut (*Citrus hystrix*), jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), dan jeruk bali (*Citrus maxima*) diujikan terhadap larva *Ae. aegypti* instar III. Daun jeruk mengandung senyawa kimia minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan terpen, yang mana senyawa-senyawa ini bekerja sebagai racun pada larva nyamuk baik sebagai racun kontak maupun racun perut.^{7,8} Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) sudah banyak diteliti mempunyai potensi sebagai bioinsektisida terhadap nyamuk dewasa *Ae. aegypti*.^{10,11} Pada penelitian ini ekstrak daun jeruk diujicobakan kembali tetapi dengan menggunakan *Ae. aegypti* stadium larva dan jenis jeruk yang digunakan diperbanyak, yaitu menggunakan jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), dan jeruk bali (*Citrus maxima*).

Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam penelitian ini dibandingkan pelarut lain dengan pertimbangan metanol merupakan

pelarut universal yang dapat melarutkan metabolit sekunder yang bertindak sebagai biolarvasida, yang bersifat polar, semi polar, dan non polar. Selain itu, beberapa penelitian yang menggunakan banyak pelarut menemukan bahwa pelarut metanol memiliki hasil yang baik dibandingkan pelarut lain. Krishnappa *et al.* menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun *Adansonia digitata* memiliki LC_{90} paling kecil (155,42 mg/L) dibandingkan ekstrak heksana (178,63 mg/L), ekstrak benzena (176,16 mg/L), dan ekstrak kloroform (168,14 mg/L) yang menyebabkan mortalitas 90% larva *Anopheles stephensi*.¹² Larva *Ae. aegypti* dalam penelitian ini menggunakan larva instar III karena memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap faktor mekanis saat terjadi pemindahan tempat, guncangan tempat, serta instar III memiliki waktu yang cukup lama untuk berubah menjadi imago (nyamuk dewasa).¹³

Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa urutan toksisitas dari tinggi ke rendah menurut nilai LC adalah ekstrak daun *Citrus hystrix*, *Citrus amblycarpa*, *Citrus maxima*. Ekstrak daun *Citrus hystrix* lebih toksik dibandingkan ekstrak lain. Hal ini ditunjukkan dengan nilai LC dari *Citrus hystrix* paling kecil (Tabel 1) dibandingkan lainnya. Hamidah menyebutkan bahwa ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix*) mempunyai daya biolarvasida yang tinggi terhadap larva *Ae. aegypti* dibandingkan kulit buah jeruk nipis.¹⁴ Perbedaan hasil diantara tiga spesies tersebut karena adanya perbedaan kuantitas dari senyawa metabolit sekunder.

Keadaan larva *Ae. aegypti* instar III setelah diberi perlakuan ekstrak daun *Citrus* menunjukkan tanda-tanda awal seperti gerakan yang cepat naik dan turun ke permukaan air, kejang-kejang, tubuh menjadi putih, garis lateral hitam pada abdomen hilang, dan lama kelamaan akan mati, serta ditemukan kepala yang hampir terlepas. Biolarvasida membunuh serangga

melalui berbagai cara, diantaranya sebagai racun kontak yang masuk melalui kulit atau dinding tubuh, maupun sebagai racun perut atau mulut yang masuk melalui alat pencernaan. Flavonoid dapat menembus kutikula larva *Ae. aegypti* kemudian merusak membran sel larva *Ae. aegypti*. Saponin juga mampu menjadi biolarvasida. Senyawa saponin dalam ekstrak yang terminum oleh larva *Ae. aegypti* dapat mengiritasi mukosa traktus digestivus larva *Ae. aegypti* dan merusak membran sel larva *Ae. aegypti*. Limonoid yang merupakan minyak esensial dalam jeruk dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ larva *Ae. aegypti*.¹⁵

KESIMPULAN

Nilai LC_{95} dari masing-masing ekstrak daun jeruk adalah *Citrus hystrix* memiliki $LC_{95} = 3.176,641$ ppm pada 24 jam dan $LC_{95} = 2.499,019$ ppm pada 48 jam, *Citrus amblycarpa* $LC_{95} = 4.174,567$ ppm pada 24 jam dan $LC_{95} = 3.256,609$ ppm pada 48 jam, *Citrus maxima* $LC_{95} = 6.369,148$ ppm pada 24 jam dan $LC_{95} = 4.886,252$ ppm pada 48 jam.

Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) memiliki toksisitas tertinggi dibandingkan kedua ekstrak daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) dan daun jeruk bali (*Citrus maxima*).

Perlu diteliti lebih lanjut tentang pembuatan formula yang terbaik untuk membuat larvasida yang paling efektif dari ekstrak daun *Citrus hystrix*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah membiayai penelitian ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada pimpinan Departemen

Biologi, kepala laboratorium, dan laboran *Basic Science* Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas dan membantu penelitian serta pihak lain yang telah membantu dan tidak bisa kami sebut satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ratnaningsih E, Asep K, Lela LK. Efektivitas Larvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp*, dan *Anopheles sundaitus*. Jurnal Sains Teknologi Kimia. 2010; 1 (1):11–15.
2. Mulyatno KC, Yamanaka A, Ngadino, Konishi E. Resistance of *Aedes aegypti* to Temephos in Surabaya, Indonesia. Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health. 2012; 43(1): 29–33.
3. Linas GA, Seccacini E, Gardenal CN, Licastro S. Current Resistance Status to Temephos in *Aedes aegypti* from Different Regions of Argentina. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2010; 105 (1): 113–116.
4. Panghiyangan R, Marlinae L, Yuliana, Fauzi, Noor D, Anggriyani. Larvaside Effect of Tumeric Rhizome Extract (*Curcuma domestica*) on Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever *Aedes aegypti* in Banjarbaru. Jurnal Epidemiologi dan Penyakit Bersumber Binatang. 2012; 4 (1): 1–6.
5. Tiwary M, Naik SN, Tewary DK, Mittal, Yadav. Chemical Composition and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Zanthoxylum armatum* DC Against Three Mosquito Vectors. Journal Vector Borne Disease. 2007; 44: 198–204.
6. Dalimartha S. Atlas Tanaman Obat Indonesia. Trubus Agriwidya. Jakarta; 2007. hlm 85–95
7. Prakash U, Bhuvameswari S, Balamurugan A, Karthik A, Deepa S, Aishwarya H, Manasveni, Sahana S. Studies on Bio Activity and Phytochemistry of Leaves of Common Trees. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2013; 4 (3): 476–481.
8. Intekhab J, Aslam M. Isolation of Flavonoid from the Roots of *Citrus sinensis*. Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2009; 7(1): 1–8.
9. Chutia M, Bhuyan DP, Pathak MG, Sarma TC, Boruah P. Antifungal Activity and Chemical Composition of *Citrus reticulata* Blanco Essential Oil Against Phytopathogens from North East India. Food Science and Technology. 2009; 42: 777–780.
10. Susilowati D, Rahayu MP, Prastiwi R. Efek Penolak Serangga dan Larvasida Ekstrak Daun Jeruk Purut *Citrus hystrix* terhadap *Aedes aegypti*. Jurnal Biomedika. 2009; 2 (1): 56–65.
11. Santya RNH, Hendri J. Daya Proteksi Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Nyamuk Demam Berdarah. Aspirator. 2013; 5 (2): 61–66.
12. Khrisnappa K, Elumalai K, Dhanasekaran S, Gokulakrishnan J. Larvicidal and Repellent Properties of *Adansonia digitata* Against Medically Important Human Malarial Vector Mosquito *Anopheles stephensi* (diptera: culicidae). Journal Vector Borne Disease. 2012; 49: 86–90.
13. World Health Organization. Guidelines for Efficacy Testing of Household Insecticide Products Mosquito Coils, Vaporizer Mats, Liquid Vaporizers, Ambient Emanators, and Aerosols, WHO control of neglected tropical diseases; 2009. pp 32
14. Hamidah. Studi Komparasi Biolarvasida Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2012; 15 (1): 21–24.

15. Minarni E, Armansyah T, Hanafiah M. Daya Larvasida Ekstrak Etil Asetat Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Jurnal Medika Veterinaria. 2013; 7 (1): 27–29.