

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C)
DAN DAUN JERUK KALAMONDIN (*Citrus mitis* Blanco) SEBAGAI
BIOLARVASIDA TERHADAP KEMATIAN LARVA INSTAR III
NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

Anita Anggraini, Hamidah, Noer Moehammadi
Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga, Surabaya

tata_rafi@ymail.com

ABSTRACT

This study aim to know the value of the larvacide toxicity (LC₉₀), lethal time (LT₉₀), and the effectiveness of the extracts of kaffir lime leave (*Citrus hystrix* D.C) and kalamondin orange (*Citrus mitis* Blanco) as biolarvasida of mortality larva instar III of *Aedes aegypti* L. mosquito. The research was done experimentally by using completely randomied design. Performed two test data from each extract, performed a linear regression ($y = mx+c$). Result from regression is used to determine the LC₉₀ of extract kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* D.C) and kalamondin orange leaves (*Citrus mitis* Blanco), which is used to test the real biological. Data of test real biological, LC₉₀ of extract kaffir lime leave (*Citrus hystrix* D.C) is 4000 ppm with the LT₉₀ is 12.67 hours. And LC₉₀ of extract kalamondin orange leaves (*Citrus mitis* Blanco) is 3800 ppm and the LT₉₀ is 14.33 hours. Judging from LC₉₀ extract kalamondin orange (*Citrus mitis* Blanco) is more effective than kaffir lime (*Citrus hystrix* D.C).

Key words : *Aedes aegypti* L., *Citrus mitis* Blanco, *Citrus hystrix* D.C, LC₉₀

PENGANTAR

Indonesia merupakan salah satu negara terbesar di dunia yang memiliki iklim tropis. Iklim tropis menimbulkan berbagai macam penyakit tropis yang salah satunya dapat disebabkan oleh nyamuk, misalnya Malaria, Demam Berdarah, Kaki Gajah, Filariasis, dan Chikungunya. Beberapa penyakit ini sering terjadi di masyarakat, sehingga menimbulkan epidemi yang berlangsung secara luas dan cepat. Penyebab utama munculnya epidemi berbagai penyakit tropis disebabkan karena penyebaran nyamuk sebagai vektor yang tidak terkendali.

Vektor penyebar penyakit Demam Berdarah dan Demam Dengue adalah nyamuk *Aedes aegypti* L. (Ndione *et al.*, 2007).

Penyakit tropis terutama Demam Berdarah di Indonesia sulit diberantas karena laju perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* L. yang menularkan penyakit demam berdarah cukup cepat, selain itu juga kepadatan penduduk juga memacu perkembangbiakan jentik nyamuk *Aedes aegypti* L. Salah satu upaya pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah memutus mata rantai penyebaran nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan cara memberantas sarang nyamuk dan membunuh larva serta nyamuk dewasa (Daniel, 2008). Penggunaan insektisida sebagai larvasida dapat merupakan cara yang paling umum dalam pengendalian pertumbuhan vektor nyamuk *Aedes aegypti* L. Biasanya yang dipakai sebagai insektisida adalah abate.

Penggunaan abate yang sudah lama akan menimbulkan resistensi atau larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akan kebal terhadap abate (insektisida) (Daniel, 2008). Pengembangan insektisida baru yang tidak menimbulkan bahaya dan lebih ramah lingkungan, dapat diperoleh melalui penggunaan biolarvasida (Lailatul dkk., 2010). Bioinsektisida atau insektisida hayati adalah suatu insektisida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (*bioaktif*) yang toksik terhadap serangga namun mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia. Selain itu insektisida nabati juga bersifat selektif (Moehammadi, 2005 *dalam* Lailatul dkk., 2010).

Indonesia yang kaya akan *flora* mempunyai berbagai jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat-obatan maupun bioinsektisida, termasuk *repellent* (obat penolak serangga). Tanaman yang mengandung minyak atsiri dapat digunakan sebagai obat penolak serangga (*repellent*) (Quanter., 1997 *dalam* Martini dkk, 2002). Salah satunya adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) karena daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) mengandung minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai obat penolak serangga (*repellent*) terutama nyamuk *Aedes aegypti* L.

Senyawa yang digunakan sebagai biolarvasida dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) adalah senyawa limonoid karena menimbulkan rasa pahit dan mempunyai efek larvasida yang paling potensial (Utraningsih dan Purwanti, 2010 dalam Faiqotul, 2011).

Pada daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) memiliki senyawa limonoid dan minyak atsiri, mendorong peneliti untuk membuktikan apakah daun jeruk purut dan daun jeruk kalamondin dapat dimanfaatkan sebagai biolarvasida.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang berwarna hijau tua, yang masih segar, dan tidak layu sebanyak 3 kg dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) yang berwarna hijau tua, yang masih segar, dan tidak layu sebanyak 3 kg, larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L., air mineral, metanol, konsentrat 521, dan larutan tween 20.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gelas ukur, gelas beaker ukuran 500 ml dan 5 ml, pipet plastik besar, spatula, neraca analitik, *hand counter*, bak plastik, gelas plastik, *rotary evaporator*, pisau, kertas label, kertas saring, toples kaca.

Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan 4 tahap, yaitu koleksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), kolonisasi larva uji, pembuatan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), dan uji hayati.

Koleksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco)

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) didapat di Laboratorium buah tropis-subtropis di Batu-Malang.

Kolonisasi larva uji

Larva uji yang digunakan adalah larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. lokal Surabaya yang telah diidentifikasi dan kolonisasi didalam Laboratorium Biologi FSAINTEK Universitas Airlangga.

Cara kerja kolonisasi larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. menurut Faiqotul (2011), dapat dikelompokkan menjadi dua tahap, yaitu: tahap koleksi telur dan tahap pemeliharaan larva.

Pembuatan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco)

Tahap pembentukan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) pertama koleksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), kemudian dilanjutkan tahapan menurut Faiqotul (2011).

Uji hayati

Uji hayati dilakukan dalam tiga tahap, yaitu uji hayati pendahuluan, uji utama untuk LC₉₀, dan uji utama untuk LT₉₀. Uji pendahuluan dimaksudkan untuk mendapatkan konsentrasi yang akan dipakai pada uji utama. Konsentrasi LC₅ dan LC₉₀ pada uji hayati pendahuluan berdasarkan modifikasi dari Faiqotul (2011). Untuk membuat berbagai konsentrasi, yang harus dilakukan pertama kali yaitu membuat konsentrasi yang tertinggi, kemudian dari konsentrasi tertinggi dibuat pengenceran. Hasil dari berbagai konsentrasi diletakan di gelas-gelas plastik, dan masukan larva uji. Selanjutnya dibiarkan selama 24 jam. Kemudian larva yang mati dihitung dengan *handcounter*.

Satuan konsentrasi ppm (mg/l). Cara membuat konsentrasi sebagai berikut ; (Hasnitasari, 2003)

$$A \text{ ppm} = \frac{A \text{ mg ekstrak}}{1000 \text{ ml aquades}}$$

Cara membuat pengenceran, sebagai berikut ;

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

Keterangan :

N_1 = Konsentrasi pertama (ppm)

V_1 = Volume pertama (ml)

N_2 = Konsentrasi kedua (ppm)

V_2 = Volume kedua (ml)

Data uji hayati pendahuluan dari masing-masing ekstrak dilakukan uji regresi *linear* ($y = mx + c$). Hasil uji regresi *linear* digunakan untuk menentukan LC_{90} dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) digunakan untuk uji hayati sesungguhnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan telur nyamuk *Aedes aegypti* L. menjadi larva adalah suhu air yang digunakan untuk menetas, pH air yang digunakan untuk menetas, ketersediaan makanan, cahaya, kepadatan larva, dan lingkungan hidup untuk meletakkan telurnya.

Selama perkembangan larva instar I sampai larva instar IV harus diberi makanan agar larva tidak mati sebelum perlakuan. Telur nyamuk *Aedes aegypti* L. dibagi dalam 3 baskom yang berwarna cerah agar terlihat perkembangannya, karena kepadatan jumlah telur akan mempengaruhi proses perkembangan dari telur nyamuk *Aedes aegypti* L. menjadi larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. dan akan menyebabkan waktu penetasan akan berbeda-beda. Lingkungan yang digunakan untuk meletakkan telur nyamuk *Aedes aegypti* L. diruangan gelap (tertutup) yang dikondisi tidak terkena sinar matahari secara langsung.

Tabel 1. Data jumlah kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat pemberian ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) selama 24 jam pada uji hayati pendahuluan

Ekstrak	Konsentrasi ppm	Jumlah larva uji	Jumlah larva yang mati	%
Daun jeruk purut	0	20	0	0
	700	20	8	40 %
	1500	20	15	75%
	2500	20	15	75 %

	3500	20	16	80 %
Daun jeruk kalamondin	0	20	0	0
	700	20	7	35 %
	1500	20	13	65 %
	2500	20	16	80 %
	3500	20	17	85 %

Data hasil uji pendahuluan dianalisis menggunakan uji regresi *linear* dengan persamaan $y = mx + c$, dan di buat grafik, untuk melihat dan memastikan LC₅ dan LC₉₀ dan untuk mendekati kebenaran. Hasil uji regresi *linear* pada ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) sebesar $y = 0.004x + 3.846$ dan ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) sebesar $y = 0.004x + 2.816$. Persamaan ini digunakan untuk menentukan LC₅ dan LC₉₀ dari masing-masing ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), yang digunakan untuk uji hayati sesungguhnya.

Tabel 2. Jumlah dan presentase larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mati setelah pemberian ekstrak daun jeruk purut dan jeruk kalamondin selama 24 pada uji hayati sesungguhnya

Jenis perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva uji	Jumlah larva instar III <i>Aedes egypti</i> L.			Rata-rata	Presentase larva instar III <i>Aedes egypti</i> L.
			Replikasi				
			I	II	III		
Kontrol	0	20	0	0	0	0	0 %
Daun jeruk purut	200	20	2	1	2	1.67	9,3 %
	700	20	9	7	9	8.33	41,65 %
	1500	20	13	15	16	14.67	73,35 %
	3500	20	17	16	16	16.33	81,65 %
	4000	30	18	19	18	18.33	91,65 %
Daun jeruk kalamondin	450	20	0	2	1	1	5 %
	700	20	6	9	7	7.33	36,65 %
	1500	20	11	13	13	12.33	61,65 %
	2500	20	17	14	16	15.67	78,35 %
	3800	20	18	19	20	19	90 %

Tabel 3. Data LC₉₀ ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) sebagai biolarvasida instar III nyamuk *Aedes aegypti* L.

Jenis Ekstrak Daun	Konsentrasi	Jumlah larva uji	Replikasi			Rata-rata
			I	II	III	
<i>Citrus hystrix</i> D.C	4000 ppm	20	18	19	18	18,33
<i>Citrus mitis</i> Blanco	3800 ppm	20	18	19	20	19

Data uji LC₉₀ ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) dapat dilihat pada tabel 3. Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) memiliki nilai toksisitas larvasida (LC₉₀) sebagai biolarvasida terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 4000 ppm dan dapat membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. rata-rata sebanyak 18,33 ekor, sedangkan ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) memiliki nilai toksisitas larvasida (LC₉₀) sebesar 3800 ppm dan dapat membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. rata-rata sebanyak 19 ekor. Dan kemampuan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) sebagai biolarvasida dalam membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. lebih banyak dibanding dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) 2500 ppm membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. sebanyak 10 ekor (Faiqotul, 2011).

Tabel 4. Data LT₉₀ dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) sebagai biolarvasida instar III nyamuk *Aedes aegypti* L.

Jenis Ekstrak Daun	Konsentrasi (ppm)	Penggulangan			Rata-rata
		I	II	III	
Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C)	4000	13 jam	12 jam	13 jam	12.67 jam
Jeruk Kalamondin (<i>Citrus mitis</i> Blanco)	3800	16 jam	14 jam	13 jam	14.33 jam

Uji LT₉₀ menunjukan bahwa nilai LT₉₀ kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat pemberian ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) konsentrasi 4000 ppm dengan rata-rata 12,67 jam. Sedangkan nilai LT₉₀ kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat pemberian ekstrak daun jeruk

kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) konsentrasi 3800 ppm dengan rata-rata 14,33 jam (tabel 4). Dan hasil yang didapat cenderung lebih cepat (LT₉₀) dalam membunuh larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. dibanding pada penelitian sebelumnya yang menggunakan ekstrak daun *Citrus aurantifolia* (jeruk nipis) 2500 ppm selama 19,7 jam (LT₉₀) (Faiqotul, 2011). Ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) lebih efektif sebagai biolarvasida terhadap kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. karena memiliki konsentrasi rendah daya membunuh atau jumlah kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. lebih banyak dan masa *lethal*nya lebih lama daripada ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang memiliki konsentrasi tinggi dengan jumlah kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. lebih sedikit dan masa *lethal*nya lebih cepat.

Pada larva uji yang terdapat dalam larutan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) berbeda dengan larva uji pada kontrol. Larva uji pada kontrol bergerak aktif, warna tubuh coklat kekuningan, dan dapat melanjutkan siklus berikutnya yaitu ke tahap pupa sampai menjadi nyamuk. Sedangkan larva uji dalam larutan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), perilaku yang ditunjukkan adalah warna tubuh menjadi terang, bergerak lebih cepat naik turun dari dasar gelas ke permukaan air didalam gelas, ukuran tubuhnya memanjang, kaku, bisa ketahap berikutnya yaitu pupa, tapi kemudian mati, dan kepala hampir putus, tidak bergerak saat disentuh dengan lidi, tubuh mengambang diatas permukaan air.

Menurut Utraningsih dan Purwanti, 2010 dalam Faiqotul, 2011, senyawa limonoida (limonoida aglicones) yang diekstrak dari daun jeruk menyebabkan rasa pahit dan mempunyai efek larvasida. Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) tidak hanya menghasilkan senyawa limonoida saja, namun menghasilkan minyak atsiri dan menghasilkan senyawa yang tidak aktif, tapi senyawa-senyawa tersebut dapat membantu meningkatkan aktivitas ekstrak tersebut secara keseluruhan, hal ini memungkinkan serangga tidak mudah menjadi resisten. Pada larutan ekstrak daun

jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) akan menimbulkan lapisan minyak, yang dimana minyak itu adalah minyak atsiri. Lapisan minyak itu akan menghalangi larva dalam mencari udara, ketika larva menempel pada permukaan air (larutan ekstrak), siphon larva akan tertutupi oleh lapisan minyak, sehingga menghalangi proses difusi masuknya oksigen dalam tubuh yang dibutuhkan oleh larva, maka larva tersebut akan mati. Dan cara kerja ini, termasuk racun pernapasan (*fumigant*) yang merupakan racun yang masuk melalui pernafasan serangga (Sungkar dkk, 2008).

KESIMPULAN

1. Ekstrak daun jeruk purut memiliki nilai toksisitas bioalarvasida (LC_{90}) adalah 4000 ppm. Sedangkan ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) adalah 3800 ppm.
2. Masa letal (LT_{90}) dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) adalah 12.67 jam. Sedangkan masa *lethal* (LT_{90}) dari ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) adalah 14.33 jam.
3. Ekstrak daun jeruk kalamondin (*Citrus mitis* Blanco) lebih efektif sebagai biolarvasida terhadap kematian larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* L. daripada ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).

SARAN

Dalam penelitian ini, kedua ekstrak daun tersebut memiliki kemampuan biolarvasida yang sangat tinggi, dan bisa sebagai alternative lain untuk insektisida hayati dari tumbuhan dalam rangka pemanfaatan sumber daya alami. Sehingga perlu diadakan penelitian yang serupa, namun menggunakan larva uji yang berbeda dan konsentrasi yang ditingkatkan lagi.

DAFTAR PUSTAKA

Faiqotul, N., 2011, **Uji Efektivitas Ekstrak Daun Tapak Dara dan Daun Jeruk Nipis Terhadap Larva *Aedes Aegypti***, Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

- Daniel, 2008, **Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal Terhadap Insektisida**, *Farmacia* Vol.7 No.7.
- Lailatul, L., Kadarohman, A., dan Eko, R., 2010. **Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, *Anopheles sundacius*, *J.Sains dan Tekonolgi Kimia*, Vol. 1 (1) : 59-65.**
- Martini., Santoso, L., dan Murni, W., 2002, **Efektifitas Replent (Daya Tolak) dari berbagai Jenis Jeruk (*Citrus sp*) terhadap Kontak Nyamuk *Aedes aegypti***, Laporan Penelitian, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Dipenegoro, Semarang.
- Ndione RD, Faye O, Ndiaye M, Dieye A., and Afoutou JM, 2007, **Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae**, In *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (24), pp. 2846-2854.
- Sungkar, S., Djakaria, S., Hoedojo, R., dan Zulhasril, 2008, **Parasitologi Kedokteran edisi keempat**, Balai Penerbitan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 250- 286.