

UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb) TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* L.

Widya Kartika, Novena Yety Lindawati*, Ardy Prian Nirwana

Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo - Baki, Bangorwo,
Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah 57552, Indonesia

*novena_yl@yahoo.com

ABSTRAK

Nyamuk *Aedes aegypti* ialah vektor penyebab penyakit DBD (Demam Berdarah Dengue). Tumbuhan pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) bersifat toksik terhadap *Aedes aegypti*. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat mengenai aktivitas larvasida ekstrak herba Pegagan terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* dengan nilai *Lethal Concentration* (LC)₅₀, dan nilai *Lethal Time* (LT)₅₀. Desain penelitian bersifat eksperimental dengan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Teknik yang dilakukan untuk pengambilan sampel adalah purposive sampling. Penelitian dengan uji pendahuluan pada konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm dan 2000 ppm. Uji lanjutan dengan konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, kontrol positif (Abate 1 ppm), dan kontrol negatif (aquadest) dengan 5 kali pengulangan. Konsentrasi kematian tertinggi pada 1000 ppm diamati pada 2 jam, 4 jam, 6 jam, 12 jam, dan 24 jam. Setiap kelompok terdiri dari 25 ekor larva. Pengujian aktivitas ekstrak herba Pegagan dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan dilanjutkan dengan Metode Analitik. Hasil uji toksisitas ekstrak herba Pegagan terhadap larva *Aedes aegypti* instar III bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 550 ppm, pada nilai LT₅₀ yaitu pada konsentrasi tersebut mampu membunuh 50% populasi larva dalam waktu 7 jam.

Kata kunci: *aedes aegypti* instar iii; ekstrak herba pegagan; larvasida

TEST OF LARVICIDE ACTIVITY GOTU KOLA HERB EXTRACT (*Centella asiatica* (L.) Urb) ON THE *Aedes aegypti* LARVAE'S MORTALITY RATE

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the vector that causes DHF (Dengue Hemorrhagic Fever). *Centella asiatica* (L.) Urb is toxic to *Aedes aegypti*. The purpose of this study was to determine the larvicidal activity of *Centella asiatica* extract on the death of *Aedes aegypti* larvae with a *Lethal Concentration* (LC)₅₀ and a *Lethal Time* (LT)₅₀. Instar *Aedes aegypti* mosquito larvae. The sampling technique used was purposive sampling. Research with preliminary tests at concentrations of 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm and 2000 ppm. Follow-up test with concentrations of 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, positive control (abate 1 ppm), and negative control (aquadest) with 5 repetitions. The highest concentration of death at 1000 ppm was observed at 2 hours, 4 hours, 6 hours, 12 hours and 24 hours. Each group consists of 25 larvae. Testing the activity of *Centella asiatica* herb extract was carried out using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method and followed by the Analytical Method. The results of the toxicity test of *Centella asiatica* extract on instar III larvae of *Aedes aegypti* were toxic with an LC₅₀ value of 550 ppm, the LT₅₀ value was able to kill 50% of the larvae population within 7 hours.

Keywords: *aedes aegypti* instar iii; extract gotu kola herb; larvicide

PENDAHULUAN

Kasus DBD di Indonesia terus terjadi setiap tahunnya. Informasi dari Kemenkes RI tanggal 29 Januari 2019 untuk tahun 2019 hingga 13.683 kasus dan 133 kematian. Pada tahun 2020 terdapat 11.726 kasus dan 662 kematian (Departemen Kesehatan RI, 2020). Tahun 2022 jumlah kumulatif kasus DBD hingga minggu ke-22 di Indonesia telah melaporkan sebanyak 45.387 kasus, dengan angka kematian akibat DBD sudah mencapai 432 kasus (Departemen Kesehatan RI, 2020).

Tingginya kasus DBD memerlukan penanganan yang tepat untuk menekan kasus. Salah satu strategi yang diterapkan adalah pengarahannya serta pengendalian vektor. Strategi tersebut guna memutus rantai siklus hidup vektor nyamuk *Aedes aegypti*. Larvasida alami masih memperluas dari berbagai macam tumbuhan yang memiliki potensi sebagai larvasida (Shinta, 2013). Di Indonesia banyak tumbuhan yang memiliki potensi larvasida alami karena kandungan yang terdapat dalam tumbuhan tersebut berupa senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan alkenil fenol (Rohimatun, dkk., 2011). Pegagan memiliki senyawa metabolit sekunder bioaktif terhadap kematian larva nyamuk seperti triterpenoid, steroid, saponin dan tanin yang dapat berperan sebagai larvasida (Irfan, 2013).

Aktivitas dari ekstrak tumbuhan sebagai larvasida tergantung pada pelarut yang akan dipakai pada saat ekstraksi, karena perbedaan tingkat polaritas terhadap pelarut yang akan digunakan untuk melarutkan senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan tersebut menyebabkan tingkat aktivitas larvasida yang berbeda (Noor, dkk., 2012). Senyawa marker yang terkandung dalam herba Pegagan adalah asiatikosida golongan triterpenoid yang dapat mencegah proses moulting pada larva, triterpenoid secara struktural mirip dengan hormon yang berperan sebagai penolak serangga (Yudha, 2013).

Penelitian Irfan (2013) menyatakan jika ekstrak dari daun Pegagan memiliki pengaruh kematian pada larva *Aedes aegypti* instar IV, dengan konsentrasi larutan sebesar 2000 ppm. Menurut WHO pada tahun 2015 pemilihan instar III karena ukurannya, sehingga memudahkan untuk identifikasi, selain itu larva instar III. Ciri-ciri spesifik dari larva instar III yaitu toraks bersih, corong pernapasan berwarna coklat kehitaman (lebih muda dikenali dibandingkan instar I dan II serta lama menjadi pupa), berukuran 4-5 mm. Instar III adalah fase awal yang digunakan sebagai standar penelitian menurut WHO.

Penelitian yang dilakukan mempunyai tujuan untuk mengetahui penggunaan herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan bentuk sediaan ekstrak sebagai insektisida nabati atas kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III untuk mengendalikan vektor dan mengurangi kasus DBD.

METODE

Alat

Dalam penelitian ini, alat yang digunakan yaitu blender (Philips), oven (Memmert), loyang, rotary evaporator (IKA), ayakan mesh 20, penangas air (Memmert), alat-alat gelas (Iwaki dan Pyrex), toples maserasi, timbangan digital (ACIS/AD-300i), beaker glass (Pyrex), kertas saring, ayakan 60 mesh Aperture 250 μ M (Retsch), pipet tetes, oven, tabung reaksi (Pyrex), wadah 250cc 5mm (Lion Star), timbangan analitik (Ohaus).

Bahan

Bahan yang dipakai yaitu tumbuhan herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), larva *Aedes aegypti* instar III dari Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit (BBTKLPP) Yogyakarta, etanol 96% (Health), abate kemasan 8 gram, ammonia (BASF Indonesia), asam sulfat pekat (Merck), larutan dragendroff, larutan FeCl₃, serbuk Mg, HCl pekat, HCl 1 N, anhidrida asetat, H₂SO₄ pekat, aquadest (H₂O).

Tahapan Penelitian:

1. Determinasi Tanaman dan Persiapan Sampel

Tumbuhan herba Pegagan diperoleh dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah. Tumbuhan Pegagan dipanen pada umur 3-4 bulan setelah masa tanam pada pagi hari. Identifikasi tumbuhan Pegagan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar. Tumbuhan pegagan yang digunakan seluruh bagian, kemudian dilakukan sortasi basah, dicuci dengan air mengalir, dirajang, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Simplisia yang sudah kering kemudian disortasi kering lalu diblender dan diayak dengan ukuran mesh 20.

2. Pembuatan Ekstrak Herba Pegagan

Simplisia yang telah diayak kemudian serbuk ditimbang sebanyak 500 gram dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% perbandingan 1:10 selama 3 hari. Hasil maserasi disaring. Ampas direndam kembali bersama pelarut etanol 96% yang baru selama 2 hari. Maserat pertama dan kedua kemudian dicampur menjadi satu dan diuapkan mempergunakan alat bernama *rotary evaporator* dan penangas air memakai suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak kental yang disebut dengan ekstrak herba Pegagan kemudian rendemen ekstrak yang diperoleh lalu dihitung.

3. Skrining Fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak herba Pegagan dilarutkan dengan etanol diuji menggunakan larutan Dragendorff yang menunjukkan adanya endapan berwarna merah kecoklatan (Alamsyah, 2014).

b. Tanin

Ekstrak herba Pegagan dilarutkan dengan etanol, kemudian direaksikan dengan larutan FeCl₃, hasil pengujian positif jika adanya perubahan warna larutan menjadi hitam kehijauan (Simaremare, 2014).

c. Saponin

Ekstrak herba Pegagan dilarutkan dengan etanol, kemudian direaksikan 10 ml aquadest, dikocok selama ± 30 detik, positif ditunjukkan dengan terbentuk buih di permukaan. Diamkan selama 10 menit, ditambahkan HCl 1N, kemudian positif adanya saponin jika membentuk buih dan diamati buih akan terbentuk dengan tinggi 1-3 cm (Saras, 2020).

d. Flavonoid

Ekstrak herba Pegagan dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan HCl dan serbuk Mg, jika positif ditandai dengan perubahan warna larutan yang dihasilkan pada menjadi merah (Alamsyah *et al*, 2014).

e. Triterpenoid atau Steroid

Ekstrak dilarutkan menggunakan etanol, kemudian direaksikan menggunakan pengujian Liebermann-Burchard dengan menambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes larutan H₂SO₄, positif jika larutan menjadi berwarna hijau tua kebiruan (Arum, dkk., 2012).

4. Uji Organoleptis

Hasil ekstrak yang telah diperoleh dengan mengamati bentuk sediaan, bau, warna, dan rasa.

5. Pembagian Kelompok

a. Uji Pendahuluan

Larutan yang mengandung ekstrak etanol herba Pegagan, dipindahkan ke wadah uji dan dibagi menjadi 4 kelompok konsentrasi, yaitu kelompok A dengan konsentrasi ekstrak herba pegagan 500 ppm, kelompok B 1000 ppm, kelompok C 1500 ppm, dan kelompok D 2000 ppm dalam wadah uji 250 ml. Direplikasi 5 kali dan 25 larva ditambahkan ke setiap wadah.

b. Uji Lanjutan

Larutan ekstrak herba Pegagan yang telah disiapkan dipindahkan ke wadah uji yang disiapkan dan dibagi sebanyak 4 kelompok konsentrasi, kelompok kontrol positif dan negatif. Kelompok A penampahan ekstrak herba Pegagan dengan konsentrasi 250 ppm, kelompok B 500 ppm, kelompok C 750 ppm, dan kelompok D 1000 ppm dibagi menjadi wadah 250 ml. Kelompok kontrol positif dengan larutan Abate 1 ppm dan kelompok kontrol negatif dengan Aquadest. Direplikasi 5 kali dan 25 larva ditambahkan ke setiap wadah.

c. Jumlah Larva Uji

Jumlah total larva yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1.250 ekor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi yang dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, menyatakan jika sampel Pegagan tersebut benar-benar tanaman Pegagan dengan spesies *Centella asiatica* (L.) Urb.

2. Pembuatan Ekstrak Herba Pegagan

Tabel 1.

Perhitungan Rendemen EKstrak			
Bahan	Serbuk (g)	Ekstrak (g)	Rendemen
Heba Pegagan	500	41,7	8,34%

3. Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia ekstrak herba Pegagan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2.

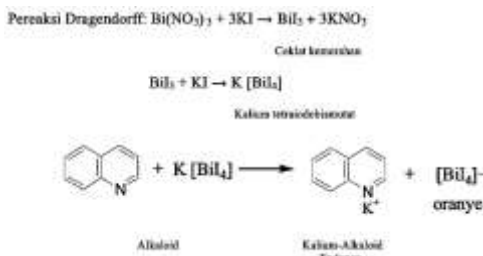
Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa metabolit sekunder	Hasil
Alkaloid	+
Saponin	+
Tanin	+
Flavanoid	+
Steroid	+
Triterpenoid	+

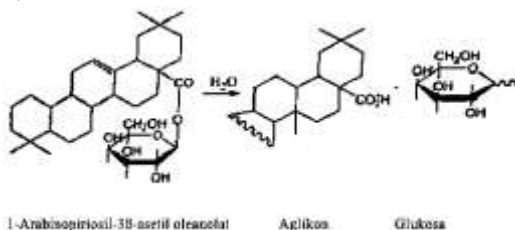
Keterangan: + terdeteksi

Mekanisme terbentuknya reaksi senyawa hasil skrining fitokimia sebagai berikut:

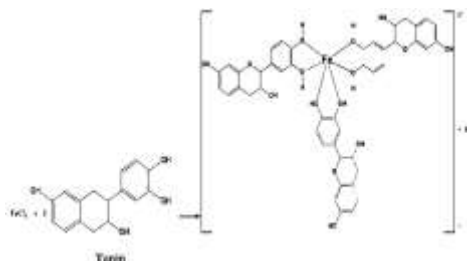
Mekanisme reaksi alkaloid:



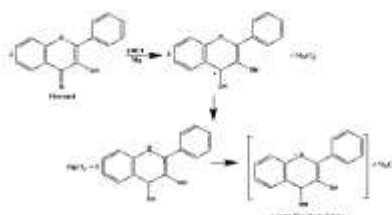
Mekanisme reaksi saponin:



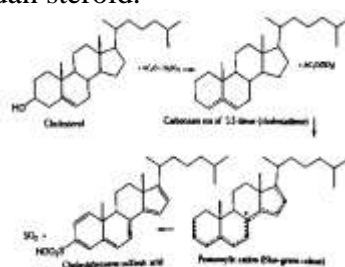
Mekanisme reaksi tanin:



Mekanisme reaksi flavonoid:



Mekanisme reaksi triterpenoid dan steroid:



4. Uji Organoleptis

Uji organoleptis ekstrak herba pegagan yang telah diperoleh yaitu: bentuk sediaan kental, warna ekstrak hijau kecoklatan, bau dan aroma khas.

5. Pengamatan Uji Pendahuluan dan Uji Lanjutan

Hasil uji pendahuluan dilakukan agar dapat menentukan konsentrasi yang tepat. Uji pendahuluan menggunakan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, dan 2000 ppm dengan 5 kali pengulangan. Larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 25 larva ekor ditempatkan di setiap wadah uji.

Tabel 3.
Hasil Pengamatan Larva Pada Uji Pendahuluan

Replikasi	Jumlah Larva Uji (Ekor)	Jumlah Kematian Pada Konsentrasi (ppm)			
		500 ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm
1	25	4	25	25	25
2	25	6	25	25	25
3	25	5	25	25	25
4	25	3	25	25	25
5	25	5	25	25	25
Rata-rata Mortalitas		0,184	1	1	1
% Mortalitas		18%	100%	100%	100%

Uji pendahuluan guna menentukan rentang larutan konsentrasi yang sesuai untuk mendapatkan konsentrasi untuk uji lanjutan, dengan menggunakan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, dan 2000 ppm dengan lima kali ulangan. Wadah diberi larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 25 larva merupakan standar WHO, penggunaan jumlah 25 larva bersifat teknis karena media uji yang digunakan yaitu wadah berisi 250 ml aquadest, apabila media uji tersebut diisi lebih dari 25 larva, kematian larva dapat terjadi karena faktor, seperti kepadatan dari media uji. Larva *Aedes aegypti* instar III yang dipakai dengan kondisi sehat, aktif, dan ukuran yang sesuai.

Tabel 4.
Hasil Pengamatan Larva Pada Uji

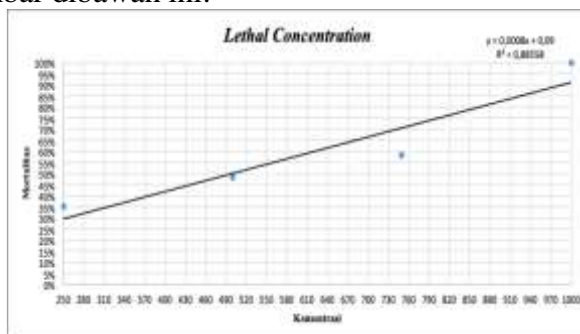
Replikasi	Konsentrasi				
	250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm	
1	8	12	14	25	
2	8	12	14	25	
3	8	12	15	25	
4	10	12	15	25	
5	10	12	15	25	
Rata-rata Mortalitas		0,352	0,48	0,584	1
% Mortalitas		35,2%	48%	58,4%	100%

Uji lanjutan pada penelitian ini digunakan untuk membandingkan antara ekstrak herba Pegagan dengan larutan kontrol, didapatkan hasil variasi konsentrasi ditetapkan dalam pengujian adalah 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, dan dua kontrol uji dengan pengulangan sebanyak lima kali. Kontrol positif digunakan larutan Abate dengan konsentrasi sebesar 1 ppm, kontrol negatif dengan Aquadest. Pada hasil pengujian kontrol negatif tidak menunjukkan adanya kematian terhadap larva. Hal ini dikarenakan aquadest yang digunakan pada pengujian tidak mengandung senyawa tertentu yang dapat mempengaruhi kematian larva.

6. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengukuran dengan metode analisis regresi dengan menghasilkan nilai LC_{50} , LC_{90} dan LC_{95} . Menurut Meyer berdasarkan metode BSLT, nilai LC_{50} dibawah 1000 ppm memiliki aktivitas toksik yang lebih kuat, artinya semakin kecil nilai konsentrasi yang dihasilkan maka semakin tinggi efek toksik pada larva. Apabila nilai LC_{50} lebih dari 1000 ppm tidak memiliki aktivitas toksik.

Hasil kurva hasil regresi linier tersebut didapatkan $y = 0,0008x + 0,09$, dan hasil nilai LT dapat dilihat pada gambar dibawah ini:

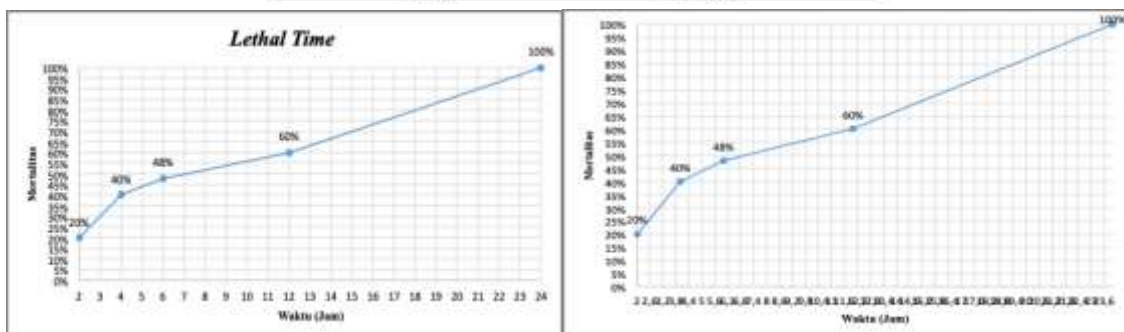


Tabel 5. Hasil analisis *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* ekstrak herba pegagan

Replikasi	Konsentrasi Kematian Larva			
	250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm
1	8	12	14	25
2	8	12	14	25
3	8	12	15	25
4	10	12	15	25
5	10	12	15	25
Rata-rata mortalitas	0,352	0,48	0,584	1
% Mortalitas	35,2%	48%	58,4%	100%
LC ₅₀	550 ppm			
LC ₉₀	940 ppm			
LC ₉₅	970 ppm			

Tabel 6. Hasil analisis kematian larva dalam satuan waktu pada konsentrasi 1000 ppm

Konsentrasi 1000 ppm	Jumlah larva mati pada satuan waktu				
	2 Jam	4 Jam	6 Jam	12 Jam	24 Jam
Nilai LT (Jam)	5	10	12	15	25
LT ₅₀	7 jam				
LT ₉₀	21 jam				
LT ₉₅	22,4 jam				



Tujuan dilakukannya determinasi tumbuhan yang digunakan pada penelitian adalah untuk memastikan bahwa sampel yang akan digunakan benar herba Pegagan. Menurut Joko, 2012 pemanenan bisa dilakukan pada saat pagi atau sore hari dalam kondisi terdingin untuk menghindari terjadinya kerusakan akibat penguapan pada herba Pegagan. Pegagan kemudian dikeringkan dengan oven suhu 50°C. Pemanasan pada suhu diatas 50°C dapat mengakibatkan senyawa yang bersifat fenolik pada pegagan dapat mengalami perubahan struktur dan menghasilkan rendemen yang rendah (FHI, 2017). Sampilisia kering kemudian dihaluskan dengan blender dan kemudian diayak menggunakan ayakan 20 mesh agar serbuk yang diperoleh halus, sehingga pelarut mampu melarutkan senyawa yang terkandung dengan mudah.

Metode ekstraksi pada penelitian ini dengan metode maserasi yang menetapkan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut ini dikarenakan dapat melarutkan senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan pemilihan kadar etanol 96% karena pelarut mempunyai sifat

polar, sehingga dapat melarutkan beberapa senyawa polar, semi polar maupun non polar dan mudah didapat, mempunyai polaritas yang tinggi yaitu 5,2 (Mukhriani, 2014). Maserat yang dihasilkan kemudian diuapkan menjadi ekstrak kental dengan menghasilkan rendemen sebesar 8,34%. Hal ini dinilai baik karena hasil rendemen memenuhi persyaratan literatur dengan rendemen ekstrak herba Pegagan yang diperoleh minimal 7,2% (FHI, 2017).

Skrining fitokimia dapat dikatakan sebagai tahap awal untuk membuktikan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak benar-benar ada. Hasil uji yang diperoleh menunjukkan identifikasi positif senyawa tersebut.

Berdasarkan Tabel 2, ekstrak mengandung senyawa alkaloid yang ditambahkan ke dalam sampel dan dragendroff akan menghasilkan endapan. Prinsip metode ini didasarkan pada pergantian pada ligan, dimana nitrogen memiliki elektron bebas pada senyawa alkaloid dengan memiliki ikatan kovalen terkoordinasi dengan ion iodin pada pereaksi. Pereaksi Dragendroff mengandung kalium hidrida dan bismut subnitrat dalam asam asetat glasial, membentuk endapan berwarna merah-coklat. Berdasarkan Tabel 2, pada senyawa saponin memiliki gugus glikosil yang berperan menjadi gugus polar dan gugus triterpenoid/steroid menjadi gugus non polar. Senyawa tersebut bersifat aktif di permukaan, memungkinkan saponin akan membentuk misel ketika larutan dikocok dengan air. Mengenai struktur misel ini, gugus yang bersifat polar akan bergerak ke luar sedangkan gugus yang bersifat non polar akan bergerak ke dalam. Hasil pengujian menghasilkan positif mengandung saponin dengan ditandai munculnya buih 1-3 cm pada saat larutan didiamkan buih tidak menunjukkan menghilang.

Tabel 2 pada hasil pengujian. Tanin dengan penambahan larutan besi (III) klorida 1% menunjukkan pengujian positif, dengan terbentuknya warna hitam kehijauan pada larutan ekstrak, diduga larutan bereaksi dengan gugus hidroksil dalam senyawa tanin. Hasil tersebut yang menjadikan perubahan warna. Pereaksi besi (III) klorida sering digunakan dalam identifikasi senyawa fenolik. Fe^{3+} dapat mengikat 6 pasang elektron bebas, ketika membentuk senyawa kompleks, ion Fe^{3+} berhibridisasi menjadi hibridisasi d^2sp^3 , mengisinya dengan 6 pasang elektron bebas dari atom O tanin. Stabilitas tersebut dapat dicapai bila tolakan antara ligan minimal pada 3 tanin. Pada hasil pengujian Tabel 2. penambahan flavonoid pada HCl pekat dan serbuk Mg menurunkan jumlah senyawa flavonoid yang terkandung akan menimbulkan adanya reaksi, karakteristik perubahan warna merah/jingga sebagai penanda bahwa sampel tersebut positif mengandung flavonoid. Hal ini didukung oleh Hasibuan (2016) yang menyatakan bahwa reaksi yang terjadi antara logam Mg dengan HCl pekat sebagai reduksi akan membuat senyawa kompleks pada larutan berwarna merah atau jingga pada senyawa aktif flavonon, flavonol, dan flavanonol. Analisis ini menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kemerahan.

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 2. kandungan triterpenoid/steroid pada ekstrak herba Pegagan dengan metode Liebermann-Buchard, jika hasil positif akan menghasilkan warna merah. Identifikasi steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menambahkan kloroform. Kloroform sebagai pelarut berperan dengan senyawa golongan terpenoid karena memiliki tingkat kepolaran yang sama (non polar), sehingga pada saat penambahan asetat anhidrat akan terbentuk turunan senyawa asetil di kloroform. Pereaksian larutan asam sulfat pekat dilakukan pada dinding tabung reaksi menghasilkan reaksi antara anhidrida asetat dan asam, maka dari itu terbentuk atom C dalam anhidrida dan terbentuk senyawa karbokation. Karbokation setelah terpenuhi bereaksi dengan atom O pada gugus -OH lalu senyawa ester akan membentuk senyawa golongan terpenoid dengan anhidrida asetat (Afif, 2013). Hasil analisis reaksi triterpenoid dan steroid dengan pereaksi Lieberman-Buchard menunjukkan perubahan

warna menjadi merah. Artinya dalam herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terdapat penanda positif mengandung senyawa marker yaitu Asiatikosida.

Efek larvasida ekstrak herba Pegagan mungkin karena senyawa yang dikandungnya, termasuk saponin dan tanin yang menghambat makan larva. Mekanisme kerja tanin bersifat toksik, sehingga senyawa ini berikatan dengan protein di kelenjar ludah sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan yang mampu larva menurunkan laju pertumbuhan dan gangguan nutrisi (Adeyemi, 2010). Saponin mirip dengan surfaktan dengan kemampuan yang dapat merusak membran, dan mekanisme kerjanya adalah menghalangi lapisan protein pada endokutikula, sehingga senyawa dengan mudah menjadi toksik dan dapat mudah masuk ke dalam tubuh larva (Hopkins, 2009).

Mekanisme kerja steroid mempengaruhi penebalan sehingga mempengaruhi dinding sel kitin sehingga menyebabkan pertumbuhan pada tubuh larva menjadi tidak normal. Golongan senyawa terpen mempunyai antifeedant yang menyebabkan larva mati. Kandungan senyawa triterpenoid dapat menghambat proses moulting pada larva (Kishore *et al.*, 2014). Mekanisme kerja flavonoid dapat menyebabkan kelumpuhan saraf dan kerusakan sistem pernafasan sehingga menyebabkan kematian pada larva dengan menghambat respirasi larva (Wardhani *et al.*, 2010). Mekanisme kerja flavonoid terjadi bersamaan dengan perjalanan oksigen melalui pembuluh darah atau saluran trakea yang bercabang hingga dapat mencapai jaringan tubuh dan sel-sel di sekitarnya. Saluran udara (siphon) pada larva terletak di dalam perut, larva menyerap oksigen secara difusi, yaitu terjadi proses pertukaran gas pada alveoli dengan darah di dalam kapiler paru karena adanya perbedaan tekanan udara. Flavonoid dapat juga masuk pada saat larva akan mengambil makanan dari wadah uji dan dapat masuk melalui kulit larva. Flavonoid menyebar ke seluruh tubuh melalui jaringan dan secara selektif merusak sistem saraf. Hal itu mengakibatkan aktivitas hormon edikson dalam pertumbuhan larva menjadi terhambat, menyebabkan kelumpuhan saraf dan akhirnya larva mati (Sayono *et al.*, 2010).

Mekanisme kerja alkaloid yaitu menghambat dari aktivitas enzim kolinesterase yang menyebabkan sistem pernafasan menjadi tersumbat, kemudian menyebabkan hilangnya stabilitas otot larva sehingga menyebabkan kematian akibat terputusnya transmisi impuls saraf. Alkaloid menghambat tiga hormon penting pada tubuh larva yaitu hormon pada otak, hormon pertumbuhan, dan hormon edikson yang dapat mempengaruhi proses pertumbuhan pada larva (Michael *et al.*, 2010).

Hasil konsentrasi membunuh menunjukkan bahwa semakin rendah nilai yang dihasilkan pada LC_{50} terhadap larvasida alami yang diuji maka hasil semakin baik. Efek larvasida yang ditimbulkan dengan jumlah konsentrasi yang sedikit dapat menghasilkan daya larvasida tinggi, hal ini dikarenakan efek kerja pada sampel yaitu asiatikosida dengan menghambat metabolisme pada tubuh larva dan menghambat kerja sistem saraf. Ekstrak herba Pegagan dapat membunuh larva karena berisi senyawa metabolit sekunder yang dikenal dengan nama *natural product* (bahan alami) termasuk senyawa asiatikosida yang aktif pada tanaman Pegagan dan mempengaruhi interaksi ekologi antara tanaman dengan lingkungan. Hasil nilai *Lethal Time* menunjukkan bahwa semakin rendah waktu kematian larva, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diperlukan, lalu semakin banyak senyawa yang mempunyai efek membunuh larva uji, sehingga larva melemah dan akhirnya mati pada rentang waktu tersebut.

Pada penelitian Irfan (2013) menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak daun pegagan yang diujikan pada larva *Aedes aegypti* instar IV dapat membunuh pada konsentrasi 2000 ppm.

Perbedaan ini diduga karena perbedaan umur larva yang digunakan, yaitu saat umur larva instar IV memasuki stadium terakhir dari siklus hidup larva, saat metabolisme dalam tubuh larva instar IV larva menjadi sangat lemah sehingga sistem pencernaan larva terhenti, kemudian larva akan menjadi pupa.

SIMPULAN

Berlandaskan pada hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa aktivitas larvasida ekstrak herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan larva *Aedes aegypti* instar III menyatakan bahwa pada ekstrak herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sangat berpotensi menjadi larvasida alami terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III dan hasil konsentrasi larutan optimal yang memiliki efek mortalitas yaitu konsentrasi 1000 ppm dengan angka mortalitas larva 100% dengan waktu pemaparan selama 24 jam untuk membunuh populasi larva uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemi, O. S. (2010). Biochemical changes in the kidney and liver of rats following administration of ethanolic extract of *Psidium guajava* leaves, *Human and Experimental Toxicology*, 30(9) 1266-1274.
- Afif, S. (2013). Ekstraksi Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) dari Perairan Sumenep Madura. *Skripsi*. Universitas Negeri Maulana Maik Ibrahim. Malang.
- Alamsyah, H. K., Widowati, I., Sabdon, A. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut sargassum cinereum (jg agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus epidermis*, *Journal of Marine Research*, 3(2):69-78.
- Arif, D. N. (2011). Kematian Larva *Aedes aegypti* Setelah Pemberian Abate Dibandingkan dengan Pemberian Serbuk Serai. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Kesmas* 7, Vol. 2011, 91-96.
- Arum., Supartono., Sudarmin. (2012). Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal MIPA* 35 (2):165-174.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2020. *Data Kasus Terbaru DBD di Indonesia*. KEMENKES. Indonesia.
- Dita, N., Tri, S. W. (2015). Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. Vol.9, No.3. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. (2017). Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Haditomo, I. (2010). Efek Larvasida Ekstrak Herba Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap *Aedes aegypti* L. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hasibuan, R. (2016). Pemanfaatan flavonoid ekstrak daun katuk *Sauro pusandrogynous* (L.) sebagai antioksidan pada minyak kelapa. *Jurnal Teknik Kimia*, 3(2): 10-15.
- Hopkins, W. G., N. P. A.Honer. (2004). *Introduction to Plant Physiology*. Third Edition. John

Wiley and Sons, Inc. Ontario.

- Irfan, S. P. (2013). Pengaruh Ekstrak Ethanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap Mortalitas Larva Instar IV Nyamuk *Aedes aegypti* (Linn). *Skripsi Program Studi Kedokteran Hewan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- James, J. T., Duberry, I.A. (2009). *Pentacyclic Triterpenoids from the Medicinal Herb. Centella asiatica* (L.) Urban. 2922-2924.
- Kementrian Kesehatan RI. (2018). Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementrian Kesehatan RI. 2019. Data dan Informasi Kesehatan dan Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI.
- Kementrian Kesehatan RI. (2020). Data dan Informasi Kesehatan dan Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2020. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI.
- Kementrian Kesehatan RI. (2022). Data dan Informasi Kesehatan dan Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2022. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI.
- Kishore, D. V., Moosavi, F., Varma, D. R. R. K. (2014). Effect of ethanolic extract of *Portulaca oleracea* (Linn.) on ethylene glycol and ammonium chloride induced urolithiasis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(2): 134-140.
- Michael, V., Sylvia, S., Tjahjani, S. (2010). Efek Infusa Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Larva Nyamuk *Culex sp.* *Jurnal Kedokteran Maranatha*, 9(2), 156-161.
- Noor, Y. R., Khazai, M., Suryadiputra, I.N.N. (2012). *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. PHKA/WI-IP. Bogor.
- Rohimatun., Suriati., Sondang. (2011). Bintaro (*Cerbera manghas*) Sebagai Pestisida Nabati: Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri; ISSN 0853-8204, Bogor, IPB. Halaman 1-4.
- Saras, O. A. P. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla.) Terhadap *Escherchia coli* ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase). *Skripsi Program Studi Sarjana Farmasi*. STIKES Nasional: Surakarta.
- Sayono., Nurullita, U. (2010). Situasi Terkini Vektor Dengue *Aedes aegypti* Linn di Jawa Tengah. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 11(2): 285-294.
- Shinta, S., Sukowati., Fauziyah, A. (2008). Kerentanan Nyamuk *Aedes aegypti* di Daerah Khusus Ibukota Jakarta dan Bogor Terhadap Malathion dan Lambdacyhalothryn. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 7(1): 722-731.
- Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumma* (Roxb.) Wedd). *Jurnal Farmasi*, 11(1):1693-3591. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Cendrawasih: Jayapura.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur H. (2011). Phytochemical Screening and

Extraction: A Review, *International Journal Pharmaceutica Scientia*, 1, 1, 98-106.

Wardhani, A. T., Leviana, F. (2010). Pengaruh Cairan Penyari Terhadap Rendemen dan Kadar Tanin Ekstra Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(2): 57-61.

World Health Organization (WHO). (2005). *Guidelines For Laboratory and Field Testing Of Mosquito Larvacides*. WHO Press.

World Health Organization. (2005). *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides*.

World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention and Eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme. WHO Press. Geneva.

World Health Organization (WHO). (2013). *The procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitos*. Geneva: Departement of Reproductive Health and Research WHO.

Yudha, W. H. (2013). Efektivitas ekstrak buah bintaro (*Cerbera odollam*) sebagai larvasida lalat rumah (*Musca domestica*). *Skripsi Program Studi Kedokteran Hewan*. Fakultas Kedokteran Hewan Intitus Pertanian Bogor, Bogor. 16, 438-444.