

Efek Histopotogenik dan Daya Tolak Ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) Terhadap Vektor Demam Berdarah
Pathological effect and Repellent Of Noni (*Morinda citrifolia*) Seed Extract Toward Dengue Fever Vector

Adhi Kumoro Setya¹, Tri Harningsih²

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional^{1,2}

¹adhi_kumoro@stikesnas.ac.id, ²tri_harningsih@stikesnas.ac.id

Abstract: *Aedes aegypti* mosquitoes are categorized as dangerous insects since they often transmit deadly diseases to humans, such as dengue fever. In the current decades, the position of chemical insecticides has caused resistance of vector and reduced environmental quality due to the residue produced. This research aims to test the repellent and killing power on larvae (larvicide) of ethanol extract of noni seeds as botanical insecticide. Repellent power of the extract was analyzed using anova test. Larvicide power was tested using probit analysis and its pathological effect was examined histologically. This research used 7 (seven) variations of concentration with repetitive test for 3 (three) times. Based on the anova test, noni seeds were not effective as a repellent of mosquitoes. Meanwhile, based on probit analysis, it was shown that lethal concentration (LC50) happened in concentration of 0.03% for instar larvae 1; 0.04% for instar larvae 2; and 0.07% for instar larvae 3. Significant result of one way anova > 0,05 while histopathology description shows that larval intestinal epithelium undergoes vacuolization, and the cuticle tissue did not show any significant damage. Based on the research result, it can be reported that ethanol extract of noni seeds is not effective as a repellent, but it has a good larvicidal effect, being close to positive control which gives pathological effect on the intestinal tissue.

Key words: *Aedes aegypti*, Mengkudu (*Morinda citrifolia*), Extracts, larvicide, Repellent

Abstrak: Nyamuk *Aedes aegypti* masuk dalam kategori serangga berbahaya karena seringnya menularkan penyakit mematikan kepada manusia contohnya demam berdarah. Dalam beberapa dekade, posisi insektisida kimia telah menyebabkan resistensi dari vektor dan menurunnya kualitas lingkungan akibat residu yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan daya tolak dan daya bunuh terhadap larva (larvasida) dari ekstrak etanol biji mengkudu sebagai insektisida botani. Daya tolak ekstrak dianalisa menggunakan uji anova. Kemampuan larvasida dilakukan menggunakan analisis probit dan efek patologisnya dibaca secara histologi. Penelitian ini menggunakan 7 (tujuh) variasi konsentrasi dengan pengulangan uji sebanyak 3 (tiga) kali. Dari hasil uji anova menunjukkan biji mengkudu tidak efektif sebagai repellent (penolak) nyamuk sedangkan dari analisis probit menunjukkan lethal concentration (LC50) terjadi pada konsentrasi 0,03% untuk larva instar 1; 0,04% untuk larva instar 2 dan 0,07% untuk larva instar 3. Nilai signifikansi uji *one way anova* > 0,05 sedangkan gambaran histopatologi menunjukkan epitel usus larva mengalami vakuolisasi sedangkan jaringan kutikula tidak memperlihatkan kerusakan berarti. Dari hasil penelitian ini dapat dilaporkan bahwa ekstrak etanol biji mengkudu tidak efektif sebagai repellent (penolak) tetapi mempunyai daya larvasida yang bagus mendekati kontrol positif yang berefek patologis pada jaringan ususnya.

Kata kunci: *Aedes aegypti*, *Morinda citrifolia*, Ekstrak, Larvasida, Daya tolak

I. Pendahuluan

Berbagai macam penyakit yang dapat disebarkan oleh *Aedes aegypti*, demam berdarah merupakan penyakit mematikan dan menjadi momok bagi dunia kesehatan (Imam, 2009). Terhitung sejak tahun 1968 hingga tahun 2009, *World Health Organization (WHO)* mencatat negara Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara (Sukowati, 2010). Pemanasan global yang berimplikasi terhadap peningkatan suhu membuat metamorfose *Aedes aegypti* memendek dan curah hujan yang tinggi membuat semakin banyaknya tempat berkembang biak stadium *acuatic* nyamuk (Felipe, 2013). Hal inilah yang membuat kenapa

demam berdarah susah untuk dihilangkan terlebih di Indonesia.

Banyak laporan tentang terjadinya resistensi insektisida pada *Aedes aegypti* di berbagai negara endemik demam berdarah (Labbé P. *et al*, 2017). Unsur kimia dari insektisida yang susah diurai membuat semakin buruk citra insektisida kimia dalam menekan penyakit vektor nyamuk. Insektisida kimia menyebabkan kualitas lingkungan menjadi rendah serta mengancam kehidupan ekosistem. Dari alasan tersebut peran teknologi dan insektisida nabati yang lebih ramah lingkungan sebagai alternatif untuk menggantikan insektisida kimia yang berbahaya (Costa, 2012).

Telah lama buah mengkudu secara empiris dan melalui penelitian bermanfaat bagi

kesehatan manusia (Wahyuni, 2008). Dari penelitian Setya (2017), hasil fitokimia dalam biji mengkudu positif terdapat alkaloid, saponin, tanin dan glikosida jantung. Senyawa fitokimia tersebut dapat dimanfaatkan sebagai insektisida nabati.

Penelitian ini dirancang untuk menguji kemampuan dari ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai penolak gigitan nyamuk dan larvasida. Dalam penelitian ini juga mengevaluasi kemampuan patologis dari ekstrak terhadap jaringan larva. Perubahan jaringan kutikula dan usus larva dibandingkan dengan kontrol dan dilaporkan sebagai data histopatogenik.

II. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan studi *Post-test With Control*. Subyek dari penelitian ini adalah larva instar III *Aedes aegypti* hasil koloni dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga. Gambaran histopatologi larva dilakukan di laboratorium mikro anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Bahan

Persiapan ekstrak tanaman

Biji *Morinda citrifolia* diperoleh dari pekarangan penduduk kabupaten Karanganyar, Sukoharjo dan Wonogiri provinsi Jawa Tengah. Biji dikeringkan pada suhu kamar dan inkubator. Dihaluskan menjadi serbuk dan dipindahkan ke dalam wadah kaca untuk ekstraksi. sebanyak, 1,8 kg serbuk biji mengkudu dipindahkan ke botol kaca, yang berisi masing-masing 1,5 L etanol selama 3 hari. Suspensi disaring dan dievaporasi menggunakan vakum rotary dan disimpan dalam almari es sebelum digunakan.

Persiapan koloni larva dan nyamuk

Larva dan nyamuk dewasa diperoleh dari induk *Aedes aegypti* noninfeksius. Stadium telur disimpan dalam kertas saring yang terhindar dari matahari dan air.

Tahapan

Persiapan Larva Instar dan nyamuk dewasa

Larva instar I, II dan III diperoleh melalui penetasan stadium telur yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga. Sebanyak 3000 butir telur *A. aegypti* dimasukkan dalam aquades 1 (satu) liter selama 5-7 hari dengan pemberian tetra bit sebagai makanan larva. Dipilih dan dipisahkan larva instar dalam cup masing-masing 20 ekor tiap cup.

Diambil nyamuk betina umur 3-5 hari dan disimpan dalam 7 cup berpori masing-masing berisi 15 nyamuk betina. Pemberian larutan gula

digunakan untuk mencegah nyamuk mati dalam cup.

Persiapan konsentrasi ekstrak

Konsentrasi untuk daya tolak berurutan disiapkan 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40%. Konsentrasi larvasida yang diuji dalam penelitian berurutan dari 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 1,5% dan 2%. Semua konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali. Volume aquades sebagai pelarut dan pengujian digunakan 100 ml tiap cup. Sebagai kontrol hanya berisi etanol 96% untuk uji daya tolak dan aquades untuk uji larvasida.

Pengujian daya tolak (repellent)

Uji ini menggunakan lengan tangan probandus sebagai media perlakuan. Hindarkan tangan dari kontaminan bau yang dapat merangsang atau menolak nyamuk. Terhadap lengan probandus sebelah kiri disemprotkan etanol 96% dan untuk seri konsentrasi ekstrak disemprotkan lengan sebelah kanan. Pengamatan terhadap banyaknya nyamuk yang hinggap pada tangan dilakukan setiap jam dimulai dari jam ke-0 (segera sesudah tangan disemprotkan) sampai dengan jam ke-3. Rerata hasil dianalisa menggunakan uji one way anova.

Pengujian larvasida

Tiap konsentrasi berikut pengulangannya, kepada masing-masing cup dimasukkan masing-masing 20 ekor larva instar I,II dan III. Efek mortalitas ekstrak dibaca setelah 24 jam paparan. *Lethal concentration* (LC50) dari konsentrasi ekstrak dihitung menggunakan analisis probit.

Efek histopatologi

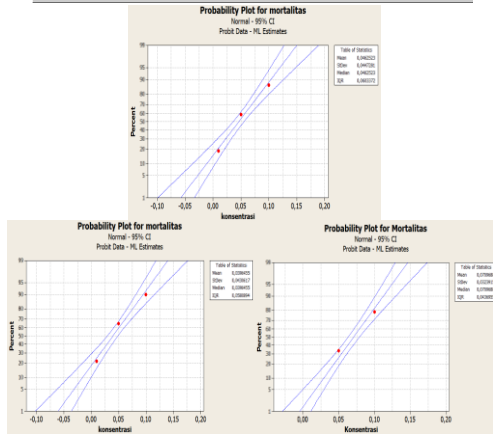
Terhadap larva yang telah mati akibat efek ekstrak dipisahkan dan diberi formalin 5-10%. Dilakukan proses pembedahan menggunakan mikrotom dan secara bertahap dilakukan pengecatan HE dan PAS.

III. Hasil

Terlihat pada tabel 1 bahwa semakin rendah umur larva dan semakin meningkat konsentrasi dari ekstrak yang diberikan maka jumlah larva yang mengalami mortalitas juga semakin banyak. Hal tersebut terjadi pada semua prosedur pengulangan dari konsentrasi.

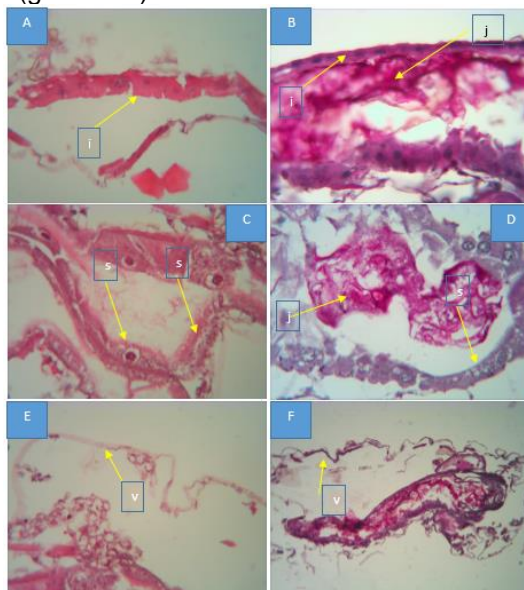
Tabel 1. Hasil uji larvasida

Kons (%)	Umur instar	Pengulangan		
		I	II	III
0,01	I	5	4	4
0,05		15	10	14
0,1		18	20	16
0,5		20	20	20
1		20	20	20
1,5		20	20	20
2	20	20	20	
0,01	II	5	3	3
0,05		12	10	13
0,1		18	18	16
0,5		20	20	20
1		20	20	20
1,5		20	20	20
2	20	20	20	
0,01	III	0	0	0
0,05		4	16	8
0,1		17	16	14
0,5		20	20	20
1		20	20	20
1,5		20	20	20
2	20	20	20	



Gambar 1. Grafik analisis probit dengan LC 50 berurutan ; instar I 0,03% (atas), instar II 0,04% (kiri) dan instar III 0,06% (kanan)

Gambaran histopatologi, efek ekstrak biji mengkudu diperiksa pada jaringan usus dan kutikula pada larva dengan pengecatan HE dan PAS (gambar 2).



Gambar 2. Pada larva kontrol (A dan B) epitel bertipe kuboid simplek (i) tidak mengalami perubahan dan kerusakan. Berbeda pada larva dengan perlakuan ekstrak (C dan D), jaringan epitel mengalami perengangan vakuolisasi (s). Adanya jejak isi perut terlihat jelas pada pengecatan PAS, dimana isi usus positif berwarna magenta (j). Jaringan kutikula (v) pada percobaan ini tidak memberikan perbedaan yang berarti antara larva kontrol (E) dan perlakuan (F).

Tabel 2. Hasil rata-rata daya proteksi ekstrak etanol biji buah mengkudu pada interval jam ke-0 sampai jam ke-3

Perlakuan konsentrasi	0	1	2	3
10%	42,68789	57,85618	53,2101	54,14819
15%	49,46797	48,50859	46,90812	50,65045
20%	35,90486	50,19635	52,41235	60,14932
25%	49,97267	60,85211	67,50053	78,05995
30%	53,91355	67,15704	68,16892	80,21154
35%	63,47266	71,26735	74,12275	79,65158
40%	61,44742	74,9951	80,13951	87,13574

Tabel 3. Hasil uji One Way Anova

Uji ANOVA							
Konsentrasi	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%
Sig	,072	,990	,165	,193	,113	,450	,232

Hasil perhitungan daya proteksi ekstrak etanol biji buah mengkudu menunjukkan bahwa daya proteksi tertinggi adalah 87,13574 yaitu pada konsentrasi 40 % jam ke 3, dimana daya proteksinya menurun sampai 61,44742 selama 3 jam. Berdasarkan tabel 3 didapatkan nilai signifikansi > 0,05 dengan hasil tersebut maka menyatakan bahwa ekstrak etanol biji buah mengkudu tidak efektif sebagai *Repellent* terhadap *Aedes aegypti*.

IV. Pembahasan

Metode maserasi pada penelitian ini menggunakan etanol 96 %, karena memiliki sifat toksik yang rendah dan semipolar sehingga dapat melarutkan zat kimia yang bersifat polar maupun non polar (Musdalifah, 2016). WHO pada *Global Malaria Programme* (2016), usia ideal nyamuk untuk uji insektisida adalah 2-5 hari dan berjenis kelamin betina. Nyamuk dengan usia 2-5 hari merupakan usia produktif dan pada usia tersebut nyamuk memiliki ketahanan tubuh yang kuat.

Daya proteksi yang didapatkan dari uji efektivitas ekstrak etanol biji buah mengkudu ini

masih dibawah standar nasional yang diberlakukan untuk sediaan anti nyamuk. Hasil perhitungan daya proteksi ekstrak etanol biji buah mengkudu menunjukkan bahwa daya proteksi tertinggi adalah 87,13574 yaitu pada konsentrasi 40 % jam ke 3, dimana daya proteksinya menurun sampai 61,44742 selama 3 jam. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji buah mengkudu mempunyai potensi sebagai *Repellent* terhadap *Aedes aegypti* meskipun daya proteksinya kurang dari 90 %, dimana peraturan pemerintah melalui Komisi Pestisida Departemen Pertanian (1995) mensyaratkan bahwa suatu sediaan anti nyamuk dapat dikatakan efektif apabila daya proteksinya 90 % selama 6 jam.

Daya proteksi ekstrak etanol biji buah mengkudu setiap konsentrasi dan interval waktunya mengalami kenaikan dan penurunan, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya ketahanan ekstrak tersebut tidak cukup lama dan berkurang setiap jamnya. Berkurangnya daya tahan aroma ekstrak tersebut disebabkan besarnya laju penguapan selama pengujian berlangsung pada setiap pengamatan.

Potensi keefektifan ekstrak etanol biji buah mengkudu sebagai *repellent* dipengaruhi oleh tiga hal, yang pertama adalah penguapan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol biji buah mengkudu yang semakin meningkat seiring berjalannya waktu, sehingga bau dari ekstrak etanol biji buah mengkudu akan berkurang dan mengakibatkan penurunan potensi *repellent*. Kedua adalah keefektifan ekstrak biji buah mengkudu dapat ditinjau dari hasil uji fitokimia dalam biji buah mengkudu tersebut. Ketiga, aktivitas nyamuk *Aedes aegypti* yang semakin menurun seiring bertambahnya waktu sehingga seakan-akan nyamuk yang hinggap pada tangan semakin sedikit. Penurunan aktivitas nyamuk disebabkan oleh perbedaan umur dan keadaan oviparitas dari masing-masing nyamuk (Kardinan, 2007).

Organ usus dan kutikula pada larva merupakan pintu awal perlindungan dari berbagai patogen. Kesehatan usus menjadi faktor penentu bahwa makanan yang masuk dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi untuk terus berkembang. Komponen kitin pada kutikula menyebabkan larva terlindung dari patogen maupun cemaran yang dapat mempengaruhi perkembangan dan kemampuan hidup. Terjadinya vakuolisasi pada epitel usus membuktikan bahwa telah terjadi ketidak seimbangan osmotik pada larva sehingga memicu terjadinya kematian. Jaringan kutikula yang masih utuh memperlihatkan ekstrak tidak mampu menyebabkan kelainan berarti pada jaringan tersebut.

V. SIMPULAN

Hasil penelitian ekstrak Etanol Biji Mengkudu dapat disimpulkan bahwa ekstrak tanaman tersebut tidak cukup efektif sebagai penolak gigitan nyamuk (*repellent*) tetapi berpotensi dimanfaatkan sebagai larvasida. Ekstrak biji mengkudu mampu menghasilkan lethal concentration (LC50) pada larva instar I, II dan III masing-masing pada konsentrasi 0,03% 0,04% dan 0,06%. Data histopatologi dari jaringan larva terlihat epitel usus mengalami vakuolisasi akan tetapi jaringan kutikula dari penelitian ini tidak mengalami kerusakan berarti jika dibandingkan dengan kontrol.

VI. UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas bantuan dana sehingga dapat terselesaikannya penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Costa, Pinheiro do, Serrão je and pereira M.J.B. 2012. Morphological Changes in the Midgut of *Aedes aegypti* L. (Diptera: *Culicidae*) Larvae Following Exposure to an *Annona coriacea* (Magnoliales: *Annonaceae*) Extract. Depto de Ciências Biológicas, UNEMAT. Brazil.
- Felipe J.C, Carlo F., Iain R.L and Paul R.H. 2013. *The Effects of Weather and Climate Change on Dengue*. PLOS Neglected Tropical Diseases. Department of Economics, University of California, California.
- Imam D.M., Qathrunnada D., Iwang Y., 2009. Deteksi Virus *Dengue* pada Telur Nyamuk Dewasa *Aedes spesies* di Daerah Endemis DBD. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- Kardinan, Agus. (2007). Potensi Selasih Sebagai *Repellent* Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Litri* 13 (2):38-42.
- Labbé P, David J.P, Alout , Milesi P. , Djogbéno , Pasteur N., Weill M., 2017. *Evolution of Resistance to Insecticide in Disease Vectors*. Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier, Université de Montpellier. France.

- Musdalifah, 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Insektisida Hayati Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin.
- Setya A.K. 2017. Potensi Biji Mengkudu (*morinda citrifolia* l.) Sebagai Antelmintik Terhadap *Ascaris suum*. *Journal Media Farmasi Indonesia*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi. Semarang.
- Sukowati S, 2010. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia. *Buletin Jendela Epidemiologi*. Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI. Vol 2.
- Wahyuni, S. 2008. Kajian daya insektisida biji paria (*Momordica charantia* L.) dan biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L) terhadap perkembangan sitophilus zeamais Motsch. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian,IPB, Bogor. Pp. 42.
- WHO (2016). Global Malaria Programme : Test Procedure of Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vector Mosquito Second Edition. Switzerland : World Health Organization