

**AKTIVITAS BIOLARVASIDA EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT BATANG BAKAU MERAH (*Rhizophora stylosa*) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

**BIOLARVACIDAL ACTIVITY OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF RED MANGROVE'S STEM BARK (*Rhizophora stylosa*) AGAINST *Aedes aegypti* LARVAE**

**Fani Putri Amelia\* dan Suyatno**

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

\*e-mail: putriameliafani@yahoo.com

**Abstrak.** Tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) merupakan salah satu tumbuhan famili Rhizophoraceae yang telah dikenal dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Namun demikian kandungan kimia dan aktivitas biolarvasida tumbuhan tersebut belum banyak dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) serta aktivitas biolarvasida ekstrak tersebut terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Uji kandungan kimia untuk senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan pereaksi  $FeCl_3$ , senyawa flavonoid dengan tes Shinoda, serta uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner. Ekstrak etil asetat tersebut diuji aktivitas biolarvasidanya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III pada inkubasi selama 24, 48, 72, dan 96 jam. Besarnya aktivitas biolarvasida dinyatakan dalam  $LC_{50}$  yang ditentukan dengan analisis probit. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) mengandung senyawa fenolik dengan uji  $FeCl_3$ , flavonoid dengan uji tes Shinoda, dan alkaloid dengan uji pereaksi (Mayer, Dragendorf, dan Wagner). Berdasarkan hasil analisis probit diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar 4684,20mg/L, 3889,43mg/L, 1853,31mg/L, dan 951,32mg/L untuk masing-masing waktu inkubasi 24, 48, 72, dan 96 jam. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  pada inkubasi selama 96 jam dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki toksisitas dengan kategori sedang karena nilainya antara 100-1000 mg/L.

**Kata kunci:** *Rhizophora stylosa*, ekstrak etil asetat, aktivitas biolarvasida, *Aedes aegypti*

**Abstract.** The red mangrove (*Rhizophora stylosa*) is one of the mangrove species in Rhizophoraceae's family which is already known and used as traditional medicine. Therefore its chemical constituents and its biolarvacidal activity were still not reported. The aims of this research are to determine the group of compound contained in the ethyl acetate extract of *Rhizophora stylosa*'s stem bark and its biolarvacidal activity. The chemical constituents test for phenolic compounds performed using  $FeCl_3$  reagent, flavonoids with Shinoda test, and alkaloids with reagents Mayer, Dragendorf, and Wagner. The ethyl acetate extract toward mortality of larvae *Aedes aegypti* instar III at incubation's time during 24, 48, 72, and 96 hours. The amount of biolarvacidal activity expressed in value of  $LC_{50}$  and was analyzed by probit analysis. The results of qualitative test showed that ethyl acetate extract of *Rhizophora stylosa*'s stem bark contained phenolic compounds using  $FeCl_3$  reagent, flavonoid with Shinoda test, and alkaloid with reagents Mayer, Dragendorf, and Wagner. Based on the results of probit analysis obtained  $LC_{50}$  values are 4684.20mg/L, 3889.43mg/L, 1853.31mg/L, and 951.32 mg/L for incubation time of 24, 48, 72, and 96 hours, respectively. Based on the value of  $LC_{50}$  at incubation during 96 hours could be concluded that the ethyl acetate extract had toxicity with moderate category because its value between 100-1000mg/L.

**Keywords:** *Rhizophora stylosa*, ethyl acetate extract, biolarvacide activity, *Aedes aegypti*

## PENDAHULUAN

DBD (Demam Berdarah *Dengue*) merupakan salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat. Penyakit tersebut bersifat menular dan sering menimbulkan kejadian luar biasa di Indonesia [1]. DBD merupakan salah satu penyakit yang belum ditemukan obat maupun vaksinya. Pengobatannya hanya bersifat suportif berupa istirahat dan pemberian cairan intravena. Tindakan pencegahan dengan memberantas sarang nyamuk dan membunuh larva serta nyamuk dewasa, merupakan tindakan yang terbaik [2].

Pengendalian penyebaran penyakit DBD dapat dilakukan dengan mengontrol vektornya yaitu nyamuk *Aedes aegypti* dengan menggunakan insektisida, misalnya abate yang berbahan aktif temephos. Bahan insektisida tersebut walaupun memiliki efektifitas yang tinggi, akan tetapi bisa berdampak negatif terhadap lingkungan dan menimbulkan resistensi dari organisme target. Salah satu cara untuk memecahkan masalah tersebut adalah dengan penggunaan insektisida alami yang lebih ramah lingkungan [3].

Tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) merupakan salah satu spesies tumbuhan mangrove yang banyak ditemukan di Indonesia. Tumbuhan ini terdapat pada habitat yang beragam, seperti di daerah pasang surut, lumpur, pasir, dan bebatuan [4]. Bakau merah memiliki berbagai macam manfaat dalam pengobatan, antara lain sebagai obat masuk angin, menghentikan perdarahan, diare, demam, malaria, dan lain-lain [5].

Aktivitas biolarvasida dari isolat dan ekstrak tumbuhan bakau merah belum pernah dilaporkan sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian tentang aktivitas biolarvasida ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Pemilihan ekstrak etil asetat dengan pertimbangan bahwa mengingat sifatnya yang semi polar, pelarut tersebut dapat mengikat baik senyawa fenolik maupun non fenolik. Uji aktivitas biolarvasida dipilih karena selama ini upaya pemberantasan larva *Aedes aegypti*

menggunakan insektisida sintetik menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan toleransi. Mengingat adanya dampak negatif yang ditimbulkan dari insektisida sintetik, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang penggunaan ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) sebagai biolarvasida dalam penanggulangan penyakit demam berdarah.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, rotary vacuum evaporator (Buchi Switzerland R-215), pompa vakum, timbangan digital, corong pisah, penyemprot, pipet tetes, pipet volume, pelat tetes, dan peralatan gelas (gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, Erlenmeyer, corong kaca, kaca arloji, dan cawan petri).

### Bahan

*n*-heksana teknis, diklorometana teknis, dan etil asetat teknis yang telah diredestilasi, HgCl<sub>2</sub>, KI, Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, I<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> pekat., H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, FeCl<sub>3</sub>, HCl pekat, pita Mg, aquades, dan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

### Prosedur Penelitian

#### Pengumpulan dan Penyiapan Sampel

Sampel tumbuhan yang berupa kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) diperoleh dari daerah Tambak Osowilangun, Surabaya, Jawa timur dan telah diidentifikasi di LIPI Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa timur. Sampel dibersihkan dari kotoran yang menempel, dipotong-potong sampai berukuran kecil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering digiling menjadi serbuk halus siap untuk diekstraksi.

#### Tahap Ekstraksi

Serbuk halus dari kulit batang tumbuhan bakau merah (*Rhizophora stylosa*) seberat 2 kg

dimaserasi berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, kemudian etil asetat masing-masing sebanyak 6 liter. Maserasi ini dilakukan dengan merendam sampel menggunakan pelarut pada suhu kamar selama 24 jam dan diulangi sebanyak 3 kali.

Hasil maserasi dengan pelarut etil asetat disaring secara vakum dengan menggunakan penyaring Buchner sehingga diperoleh ekstrak etil asetat dan residu. Ekstrak yang diperoleh diuapkan secara vakum menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai menghasilkan ekstrak etil asetat padat berwarna cokelat kemerahan sebanyak 33,4 gram.

#### Tahap Uji Kualitatif Ekstrak Uji Kandungan Fenolik

Sebanyak 1-2 gram ekstrak ditambah 3 mL metanol kemudian diaduk hingga homogen. Setelah itu dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambah 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5% dalam etanol. Hasil positif jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat [6].

#### Uji Kandungan Flavonoid

Uji kandungan flavonoid dilakukan dengan uji *Shinoda test*. Pita Mg diletakkan di plat tetes dan ditambah 1 tetes HCl pekat. Setelah itu ditetesi dengan ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol. Hasil positif senyawa flavonoid jika terbentuk warna oranye, merah atau biru [6].

#### Uji Kandungan Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak dilarutkan dengan metanol dan amonia sampai pH 8-9 kemudian disaring. Filtrat yang didapatkan ditambah dengan 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N dan dikocok hingga membentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas (asam sulfat) dan lapisan bawah. Kemudian lapisan atas dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing 5 tetes dan diletakkan pada tabung reaksi. Setelah itu masing-masing tabung reaksi ditetesi dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Jika hasil pengujian berturut-turut terbentuk endapan berwarna

putih, coklat, dan merah atau jingga maka sampel mengandung alkaloid [6].

#### Tahap Uji Aktivitas Biolarvasida Ekstrak Etil Asetat

Tahap uji aktivitas biolarvasida ekstrak etil asetat kulit batang baka merah (*Rhizophora stylosa*) adalah sebagai berikut: membuat larutan induk dengan cara melarutkan 1 gram ekstrak etil asetat dengan aquades di dalam labu ukur 250 mL. Membuat larutan uji dari larutan induk pada variasi konsentrasi 500, 1000, 2000, dan 4000 mg/L, memasukkan larutan uji sebanyak 50 mL pada cawan petri, memasukkan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing cawan dengan menggunakan pipet, melakukan pengamatan setelah 24, 48, 72, dan 96 jam terhadap kematian larva nyamuk, melakukan pengulangan sebanyak 3 kali, dan menghitung tingkat mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. Dengan prosedur yang sama uji tersebut dilakukan terhadap blanko yang berisi akuades. Larva yang belum mati kemudian dimatikan dengan cara dimasukkan ke dalam air panas.

Persentase mortalitas dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$P = \frac{X}{Y} \times 100 \%$$

Keterangan:

P = Persentase mortalitas

X = Jumlah larva yang mati

Y = Jumlah larva yang digunakan

Hubungan antara harga LC<sub>50</sub> dengan kategori toksisitas selama 96 seperti pada Tabel 1 [7].

Tabel 1. Hubungan antara Harga LC<sub>50</sub> 96 Jam dengan Kategori Toksisitas

Kategori	LC <sub>50</sub> (mg/L)
Tidak Beracun	> 10000
Rendah	1000 – 10000
Sedang	100 – 1000
Beracun	1 – 100
Sangat Beracun	< 1

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Kualitatif Kandungan Kimia

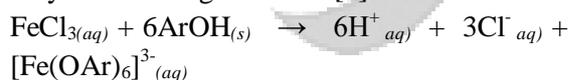
Ekstrak etil asetat padat yang telah diperolehdidentifikasi dengan uji kualitatif (fitokimia) untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etil asetat. Uji yang dilakukan adalah uji fenolik, uji flavonoid, dan uji alkaloid. Hasil uji kualitatif ekstrak etil asetat disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Uji Kualitatif terhadap Ekstrak EtilAsetat Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*)

Uji Kandungan	Hasil Uji Ekstrak	Simpulan
Fenolik	Berwarna hijau kehitaman	+
Flavonoid	Berwarna jingga	+
Alkaloid:		
- Reagen Mayer	- Terdapat endapan putih	+
- Reagen Dragendorf	- Terdapat endapan jingga	+
- Reagen Wagner	- Terdapat endapan coklat	+

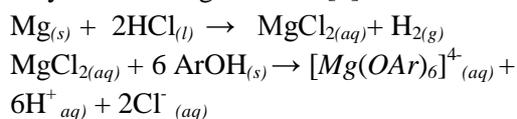
### Hasil Uji Fenolik

Uji kualitatif ekstrak etil asetat dengan menggunakan larutan  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan warna hijau kehitaman. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut termasuk ke dalam golongan senyawa fenolik. Larutan ekstrak berubah warna menjadi hijau kehitaman karena terbentuknya kompleks  $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ . Persamaan reaksinya dapat dinyatakan sebagai berikut [8]:



### Hasil Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak etil asetat memberikan hasil positif dengan pereaksi *shinoda test* ( $\text{Mg} + \text{HCl}$  pekat) karena menghasilkan warna jingga. Hal ini dikarenakan terbentuknya kompleks  $[\text{Mg}(\text{OAr})_6]^{4+}$ . Persamaan reaksinya dapat dinyatakan sebagai berikut[9]:

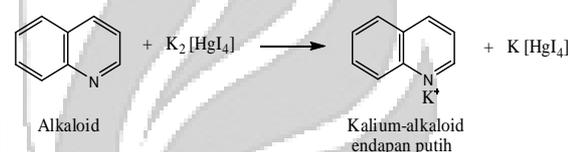


### Hasil Uji Alkaloid

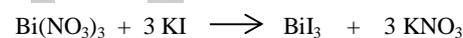
Uji senyawa alkaloid untuk dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat), pereaksi Dragendorf (kalium tetraiodobismutat), dan pereaksi Wagner (iodium dalam kalium). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer memberikan hasil positif dikarenakan ion logam  $\text{K}^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan alkaloid menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap berwarna putih. Persamaan reaksi yang terjadi pada uji Dragendorf dinyatakan sebagai berikut [10]:



Kalium tetraiodomerkurat (II)



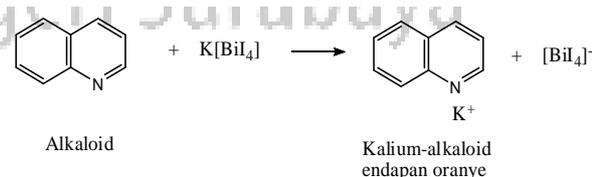
Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorf, ekstrak etil asetat memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Hal ini dikarenakan ion logam  $\text{K}^+$  dari kalium tetraiodobismutat membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan gugus nitrogen pada alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Persamaan reaksi yang terjadi pada uji Dragendorf dinyatakan sebagai berikut [10]:



Coklat

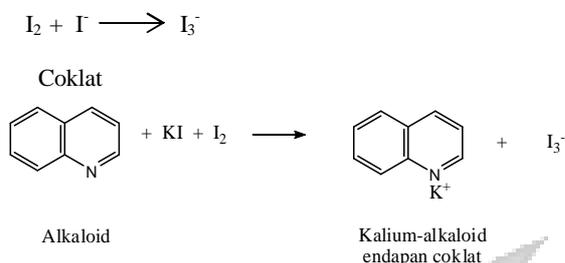


Kalium tetraiodobismutat



Pada uji alkaloid dengan pereaksi Wagner, ekstrak etil asetat memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Hal ini dikarenakan ion logam  $\text{K}^+$  membentuk ikatan kovalen koordinasi

dengan alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Persamaan reaksi yang terjadi pada uji Wagner dinyatakan sebagai berikut [10]:



### Hasil Uji Aktivitas Biolarvasida

Tabel 3. Hasil Uji Biolarvasida Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* pada Inkubasi selama 24, 48, 72, dan 96 Jam

Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat (mg/L)	Rata-rata % Kematian Larva <i>Aedes aegypti</i>			
	24 Jam	48 Jam	72 Jam	96 Jam
0	0,00	0,00	0,00	0,00
500	16,67	16,67	30,00	30,00
1000	23,33	30,00	43,33	63,33
2000	30,00	43,33	53,33	70,00
4000	43,33	46,67	73,33	86,67
LC <sub>50</sub> (mg/L)	4684,20	3889,43	1853,31	951,32

Hasil uji aktivitas biolarvasida yang dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub> pada inkubasi selama 24, 48, 72, dan 96 jam masing-masing adalah 4684,20 mg/L; 3889,43 mg/L; 1853,31 mg/L; dan 951,32 mg/L. Suatu zat yang memiliki harga LC<sub>50</sub> pada pengamatan 96 jam sebesar 100 – 1000 mg/L dapat dikategorikan memiliki toksisitas sedang [7]. Dengan demikian ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) dapat dikatakan memiliki aktivitas biolarvasida dengan kategori sedang.

Aktivitas biolarvasida ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik golongan flavonoid dan alkaloid. Senyawa bioaktif dari tumbuhan yang mempunyai aktivitas insektisida antara lain dari golongan triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid [11]. Flavonoid bekerja sebagai racun

pernapasan yaitu dengan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati. Alkaloid berupa garam sehingga dapat mendegradasi membran sel untuk masuk ke dalam dan merusak sel dan juga dapat mengganggu sistem kerja syaraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase [12]. Hal tersebut juga dapat didukung oleh penelitian terdahulu yaitu ekstrak polar kulit batang *Rhizophora mucronata* mengandung senyawa alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan serangga atau menanggulangi hama terutama ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang menyerang tanaman palawija dan sayuran [13].

### PENUTUP

#### Simpulan

Berdasarkan hasil pembahasan terhadap hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) mengandung senyawa fenolik dengan uji FeCl<sub>3</sub>, flavonoid dengan uji *shinoda test*, dan alkaloid dengan uji pereaksi (Mayer, Dragendorf, dan Wagner). Ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) memiliki potensi sebagai biolarvasida kategori toksisitas sedang terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan LC<sub>50</sub> sebesar 951,324 mg/L pada inkubasi selama 96 jam.

#### Saran

Perlu dilakukan isolasi untuk mengetahui struktur molekul senyawa fenolik dalam ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) yang aktif sebagai biolarvasida dan uji lebih lanjut terhadap aktivitas biolarvasida ekstrak etil asetat kulit batang bakau merah (*Rhizophora stylosa*) untuk mendukung kelayakan ekstrak tersebut sebagai bahan biolarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. 2009. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
2. Daniel. 2008. Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal terhadap Insektisida. *Farmacia* 7(7).
3. Nugraha, D.R. 2011. Ekstrak Kayu Jati (*Tectona grandis* L.f) sebagai Bio-Larvasida Jentik Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*). *Skripsi*. Bandung: IPB.
4. Noor, Y.R., Khazali, M., Suryadiputra, I.N.N. 1999. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Bogor: PHKA/WI-IP.
5. Akyar. 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio Harveyi*. *Skripsi*. Makasar: Universitas Hasanuddin.
6. Suyani, H. 1991. *Kimia Sumber Daya Alam*. Padang: Universitas Andalas.
7. Swan, J. M., Neff, J. M., Young, P. C. (eds.) 1994. *Environmental Implications of Offshore Oil and Gas Development in Australia - The Findings of an Independent Scientific Review*. Sydney: Australian Petroleum Exploration Association.
8. Marlina, D., Soerya, S., Venty, S. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3(1): 26-31.
9. Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
10. Miroslov, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Publishing Corporation and SNTC Publishers of Technical Literatur.
11. Syahputra, E. 2001. Hutan Kalbar Sumber Pestisida Botani, Dulu, Kini, dan Kelak, *Makalah Falsafah sains* (PPs 702). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
12. Cania, B dan Setyaningrum, E. 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung of University*, 2(4): 52-60.
13. Chalista, V. 2010. Uji Toksisitas Potensi Insektisida Nabati Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* terhadap Larva *Spodoptera litura*. *Thesis*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.