

UJI EFEKTIVITAS LARVASIDA NANOPARTIKEL EKSTRAK DAUN JERUK BALI (*Citrus maxima*) TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Effectivity Test of Larvacides Nanoparticles Extracts of Pomelo Leaves (*Citrus maxima*) Against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae.

Iga Mawarni, Wirasti, Isyti'aroh

Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

ABSTRACT

Pomelo Leaves (Citrus maxima) can be used as larvacides against Aedes aegypti mosquito larvae because there is an essential oil content in the form of limonoid functioning as a stomach poison made in the form of nanoparticles. A nanoparticle is a colloidal or solid particle that has a diameter of about 10-1000 nm. This study aims to determine and distinguish the potential of larvacides in nanoparticles and leaf extracts of Citrus maxima against Aedes aegypti larvae. Samples of 20 instar III Aedes aegypti larvae were divided into 4 treatments with 2 controls at a concentration of 0 µg/mL (negative control); 240 µg/mL; 360 µg/mL; 480 µg/mL; 600 µg/mL and abate 200 µg/mL (positive control) were then observed for 24 hours. Each test was carried out with 3 replications on the same day. The results shows that there is a significant difference between the number of larval deaths in nanoparticles and the Citrus maxima leaf extract. The LC₅₀ values of Citrus maxima leaf extract nanoparticles is 122.667 µg/mL while the LC₅₀ value of Citrus maxima leaf extract was 462.667 µg/mL. Data after ANOVA testing shows differences in the effectiveness of larvacides between extracts and nanoparticles extract of Citrus maxima leaves with a value of $p < 0,05$ ie $p = 0,000$. The conclusion of this research is, the nanoparticles extract of Pomelo leaves (Citrus maxima) extract has greater larvacide effects than the pomelo leaves extract (Citrus maxima).

Keywords: Nanoparticles, *Aedes aegypti* Larvae, Larvaside, larval deaths

ABSTRAK

Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dapat digunakan sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* karena terdapat kandungan minyak atsiri berupa limonoid berfungsi sebagai racun perut dibuat dalam bentuk nanopartikel karena dalam bentuk ekstrak daun jeruk bali memiliki efek larvasida yang masih rendah. Nanopartikel adalah suatu partikel yang berbentuk koloid atau padatan yang mempunyai diameter ukuran sekitar 10-1000 nm. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan dan membedakan potensi larvasida pada nanopartikel dan ekstrak daun *Citrus maxima* terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Sampel penelitian 20 ekor larva *Aedes aegypti* instar III yang dibagi 4 perlakuan dengan 2 kontrol pada konsentrasi 0 µg/mL(kontrol negatif); 240 µg/mL; 360 µg/mL; 480 µg/mL; 600 µg/mL dan abate 200 µg/mL (kontrol positif) kemudian diamati selama 24 jam. Masing-masing uji dilakukan dengan 3 kali pengulangan pada hari yang sama. Hasil menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara jumlah kematian larva pada nanopartikel dengan ekstrak daun *Citrus maxima*. Nilai LC₅₀ nanopartikel ekstrak daun *Citrus maxima* adalah 122,667 µg/mL sedangkan nilai LC₅₀ ekstrak daun *Citrus maxima* adalah 462,667 µg/mL. Data setelah diuji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan efektivitas larvasida antara ekstrak dan nanopartikel ekstrak daun Jeruk Bali dengan nilai $p < 0,05$ yaitu $p = 0,000$. Kesimpulan penelitian ini yaitu dalam bentuk nanopartikel ekstrak daun *Citrus maxima* memiliki efektivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* lebih besar dibandingkan ekstrak daun *Citrus maxima*.

Kata kunci : Nanopartikel, Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, Larvasida, kematian larva

Korespondensi: Iga Mawarni, Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Jl. Ambokembang No. 08 Kedungwuni, Pekalongan, Jawa Tengah, Indonesia, e-mail: igamawarni214@gmail.com

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah salah satu penyakit yang ditularkan oleh vektor yang membawa virus dengue (1). Vektor pembawa virus dengue sebagian besar berasal dari nyamuk *Aedes aegypti* (2). DBD biasanya ditemukan di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia, sebagian tersebar di daerah perkotaan dan semi perkotaan (3). Indonesia merupakan negara yang memiliki iklim tropis sehingga Indonesia sebagai tempat yang ideal untuk pertumbuhan nyamuk seperti *Aedes aegypti*.

Usaha Pengendalian yang dapat dilakukan secara mandiri yaitu dengan Pemberantasan Sarang Nyamuk dengan Menutup, Menguras dan Mengubur (PSN 3M) (4). Pengendalian lain yaitu dengan pemberian senyawa kimia atau disebut larvasida pada larva nyamuk (5). Namun beberapa tanaman juga dapat dijadikan sebagai larvasida.

Larvasida berasal dari tanaman mempunyai keuntungan dibandingkan dengan larvasida buatan karena dapat mudah terurai oleh sinar matahari, udara, kelembapan dan faktor alami lainnya. Hal ini membuat larvasida alami memiliki resiko yang cukup rendah terhadap pencemaran tanah, air, dan udara. Selain itu karena berasal dari bahan alami tingkat toksisitas rendah bagi manusia, sehingga aman digunakan dalam sehari-hari (6).

Senyawa pada jeruk bali (*Citrus maxima*) terutama dalam daunnya mengandung beberapa zat kimia diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, minyak atsiri (limonoid) senyawa tersebut dapat bekerja sebagai racun terhadap larva nyamuk dan juga bisa sebagai racun secara kontak dan racun pada perut (7).

Ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki efek sebagai larvasida masih rendah (8), hal ini untuk mencapai mortalitas yang maksimal maka penghantaran suatu senyawa yang digunakan sebagai larvasida dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas senyawa toksisitas ke dalam nanopartikel. Penghantaran nanopartikel digambarkan sebagai suatu partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer atau skala per seribu mikron. Salah satu tanaman yang bisa memiliki efek sebagai larvasida suatu larva nyamuk adalah daun jeruk bali (*Citrus maxima*).

Dari uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian dengan judul “Uji Efektivitas Larvasida Nanopartikel Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus Maxima*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*” dapat dijadikan sebagai salah satu cara untuk dapat membunuh serangga seperti larva nyamuk *Aedes aegypti*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek larvasida nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian ini adalah eksperimen, yang dilaksanakan pada bulan Februari 2020- Juni 2020 dilaboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Gedung Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (OHAUS), alat *rotary evaporator* (HEIDOLPH), toples kaca, batang pengaduk, kain kasa, kertas saring, nampan plastik ukuran 30 x 15 cm, gelas plastik, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur (Pyrex), labu ukur 100 mL, oven, *moisture analyzer*, pipet tetes, mikro pipet, pipet volume, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *magnetic stirrer*, sentrifuge, botol flakon, *Particle Size Analyzer* (PSA), oven, ayakan 40 Mesh, baskom, pipet larva dan Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun jeruk bali (*Citrus maxima*), larva nyamuk *Aedes Aegypti* instar III, etanol p.a, kitosan, NaTPP, asam asetat glasial 1%, asam klorida, asam asetat anhidrat, air sumur, aquadest, kalium permanganat, magnesium, asam sulfat pekat, DMSO (Dimetil Sulfoksida), Temephos (abate), *fish food* untuk makanan larva. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun jeruk bali (*Citrus maxima*) yang diperoleh dari Desa Bligo Rejo, Kecamatan Doro, Kabupaten Pekalongan, Provinsi Jawa Tengah. Sampel ditimbang dengan berat 5 kg. kemudian dicuci di bawah air yang mengalir, ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Setelah itu dikeringkan (dibawah sinar matahari) selama 3-5 hari. Sampel yang sudah kering kemudian di blender hingga menjadi serbuk yang dihasilkan diayakan dengan menggunakan ayakan nomor 40 Mesh, hingga diperoleh simplisia. Serbuk simplisia daun Jeruk Bali ditimbang sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambah 3 L etanol 96% sampai terendam sempurna dan dicampur sampai homogen. Campuran diekstraksi dengan metode maserasi pada suhu ruang selama 5 hari dan dilakukan pengadukan satu kali 1 jam per hari. Maserat disaring dengan menggunakan kain flannel melalui corong sehingga menghasilkan filtrat (filtrat 1), kemudian ampas kembali dimaserasi dengan ditambah 2 L etanol 96% selama 2 hari, sampai filtrat hampir tidak berwarna dan didapat filtrat (filtrat 2) , selanjutnya hasil dari filtrate 1 dan filtrate 2 dicampur sehingga menjadi sebuah larutan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental (9).

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun jeruk bali (*Citrus Maxima*), dilakukan dengan cara larutan kitosan 0,08% dalam asam asetat glasial 1% ditambah dengan tween 80 sebanyak 1 mL dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Penambahan tween 80 berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan, dan memperkecil ukuran partikel dalam larutan. Kemudian pada larutan kitosan 0,08%, ditambahkan masing-masing konsentrasi 48, 72, 96, 120 mg ekstrak daun jeruk bali yang telah

dilarutkan etanol 96% dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan larutan NaTPP 0,1% dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 4000 rpm selama 90 menit (10).

Uji larvasida dilakukan dengan melihat dan membandingkan daya bunuh nanopartikel dan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap larva *Aedes aegypti* sesuai dengan dosis dan waktu yang ditetapkan. Menggunakan konsentrasi 0 mg/mL (kontrol negatif), 240 µg/mL; 360 µg/mL; 480 µg/mL; 600 µg/mL dan abate 200 µg/mL (kontrol positif). Uji efektivitas nanopartikel dan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dilakukan untuk menentukan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration* 50%). Larutan uji dalam berbagai konsentrasi diletakkan ke dalam mangkok plastik dengan volume 100 mL. Larva diletakkan ke dalam mangkok plastik yang berisi berbagai konsentrasi larutan uji dengan menggunakan pipet larva. Masing-masing perlakuan dalam wadah berisi 20 larva *Aedes aegypti* instar III dengan volume 100 mL pada mangkok plastik dan jumlah pengulangan sebanyak 3 kali. Setelah 24 jam. Dilakukan perhitungan jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati pada masing-masing konsentrasi larutan ekstrak etanol daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*). Larva yang dinyatakan mati yaitu larva yang berada dibawah air dan jika di sentuh menggunakan batang pengaduk larva tidak dapat bergerak. Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration* 50%). Untuk mengetahui persentase kematian larva uji dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Presentase Mortalitas} = \frac{\text{Rata - rata kematian larva uji}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi pada tanaman yang digunakan dalam penelitian. Tanaman yang digunakan adalah tanaman Jeruk Bali (*Citrus maxima*). Bagian yang digunakan adalah daun. Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro (UNDIP) pada tanggal 27 Januari -30 Januari 2020.

a. Hasil Randemen Simplisia Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Tabel 1. Rincian persentase rendemen simplisia

Simplisia	Rendemen simplisia (%)
Daun Jeruk Bali	30

Bahan awal daun Jeruk Bali yang digunakan adalah 5 kg dan diperoleh berat serbuk simplisia sebanyak 1,5 kg. nilai randemen daun Jeruk Bali yang dihasilkan adalah 30%.

b. Hasil Randemen Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Tabel 2. Rincian persentase rendemen ekstrak

Simplisia	Berat Serbuk Simplisia (gr)	Rendemen Ekstrak (%)
Daun Jeruk Bali	500	9,73

Hasil persentase randemen tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun Jeruk Bali diperoleh hasil randemen 9,73%, maka semakin besar nilai randemen yang didapat maka ekstrak yang dihasilkan semakin baik

c. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak

Pada penelitian ini dilakukan uji parameter spesifik dan uji kadar air untuk simplisia dan ekstrak. :

Uji Parameter Spesifik

Uji spesifik meliputi uji identitas dan organoleptis serta identifikasi senyawa kimia pada sampel. Parameter lain yang termasuk dalam uji spesifik adalah uji kandungan kimia (skrining fitokimia). Uji kandungan kimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun Jeruk Bali secara kualitatif.

Uji kadar air

Tabel 3. Parameter non-spesifik simplisia dan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Daun	
Simplisia	Ekstrak
3,22 %	0,02 %

Hasil uji kadar air simplisia dan ekstrak daun Jeruk Bali menunjukkan kadar air sesuai batas persyaratan yang ditetapkan yaitu dengan batas air < 10% (11).

d. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

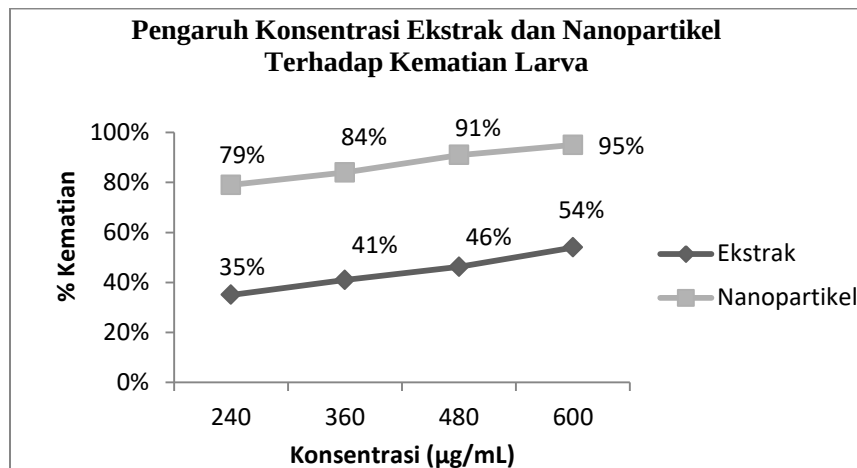
Tabel 4. Hasil Pengukuran Nanopartikel

Karakterisasi	
Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
208,3	0,267

Hasil uji PSA (*Particle Size Analyzer*) menunjukan ukuran partikel sebesar 208,3 nm hal ini sesuai dengan parameter yang telah ditentukan, suatu partikel sebagai nanopartikel yaitu berukuran sekitar 10-1000 nm (12). Sedangkan pada indeks polidispersitas menunjukan nilai sebesar 0,267 hal ini menunjukan distribusi ukuran partikel yang sempit (13).

e. Uji Larvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*

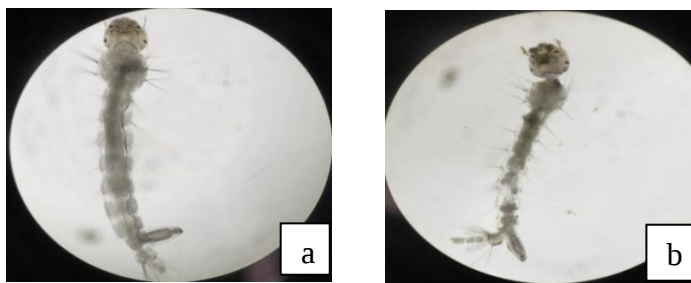
Pengujian larvasida merupakan suatu uji yang menunjukkan jumlah kematian pada larva uji. Hewan uji yang digunakan yaitu larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 20 ekor yang telah diadaptasi dalam setiap konsentrasi.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi ekstrak dan nanopartikel daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar konsentrasi yang digunakan, maka cenderung semakin banyak larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati. Keadaan larva *Aedes aegypti* instar III setelah diberi perlakuan nanopartikel dan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) menunjukkan tanda-tanda awal seperti

gerakan yang cepat naik dan turun ke atas permukaan air, kejang-kejang, tubuh berubah warna menjadi lebih transparan, garis lateral hitam pada abdomen hilang, dan lama kelamaan larva akan mati. Berikut hasil penampakan larva nyamuk *Aedes aegypti* setelah diberi perlakuan



Gambar 2. Penampakan mikroskopik (a) larva diberi perlakuan ekstrak, (b) larva diberi perlakuan nanopartikel dengan perbesaran 30 kali.

f. Hasil Uji Nilai LC_{50} (Lethal Concentration 50%)

Daya larvasida pada suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan parameter *Lethal Concentration 50* (LC_{50}). LC_{50} merupakan suatu indikasi ketoksikan terhadap senyawa yang dapat menyebabkan kematian 50% pada populasi hewan uji. Suatu senyawa dikatakan toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ µg/mL. Semakin kecil nilai LC_{50} menunjukkan toksisitas senyawa semakin besar dan sebaliknya semakin besar nilai LC_{50} maka semakin kecil toksisitasnya (Ramdhini, 2010).

Tabel 5. Nilai mortalitas (LC_{50}) larva *Aedes aegypti*.

Sampel	LC_{50} (µg/ml)
Ekstrak	462,667
Nanopartikel	122,667

Hasil uji larvasida yang dilakukan didapatkan hasil bahwa ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki nilai LC_{50} sebesar 462,667 µg/mL, sedangkan nanopartikel nilai LC_{50} sebesar 122,667 µg/mL. Pengujian larvasida terhadap ekstrak dan nanopartikel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) ke 2 nya menunjukan nilai dibawah <1000 µg/mL ($LC_{50} < 1000$ µg/mL).

g. Analisis Data

Uji Normalitas yang didapatkan dari kedua sampel yaitu ekstrak dan nanopartikel daun jeruk bali (*Citrus maxima*) mempunyai nilai $p > 0,05$, berarti data berdistribusi normal.

Uji homogenitas yang didapat adalah $p = 0,986$ ($p > 0,05$) yang berarti data yang diperoleh adalah homogen. Selanjutnya

Uji *One Way ANOVA* didapatkan bahwa kedua sampel uji menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah kematian larva *Aedes aegypti* pada masing-masing sampel ekstrak dan nanopartikel daun jeruk bali (*Citrus maxima*).

Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah kematian larva *Aedes aegypti* dalam konsentrasi ekstrak dengan nanopartikel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dimana nilai signifikan <0,05 yaitu sebesar 0,000.

PEMBAHASAN

1. Pengumpulan Bahan Baku

Tanaman Jeruk Bali (*Citrus maxima*) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Desa Bligo Rejo, Kecamatan Doro, Kabupaten Pekalongan, Jawa Tengah. Bagian tanaman Jeruk Bali (*Citrus maxima*) yang digunakan untuk penelitian adalah bagian daun.

2. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan bahan baku, dilakukan dengan pengambilan daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) ditempat yang sama agar tidak ada perbedaan kandungan senyawa aktif yang terkandung didalam sampel. Pengambilan sampel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) pada pagi hari agar sampel dalam kondisi segar, pengambilan sampel tidak dilakukan pada siang hari karena dapat mengakibatkan kandungan senyawa aktif pada tanaman akan berkurang karena adanya proses metabolisme. Daun jeruk bali yang digunakan adalah daun yang tua berwarna hijau segar dan tidak rusak. Selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan atau bahan organik yang melekat pada daun. Perajangan bertujuan untuk membuka kelenjar minyak yang ada disimplisia sehingga dapat mempercepat proses pengeringan, pengepakan maupun penggilingan (14). Dalam proses ini semakin tipis perajangan pada bahan yang dikeringkan, maka akan semakin cepat proses penguapan air, sehingga dapat mempercepat proses pengeringan Tujuan simplisia dikeringkan langsung dibawah sinar matahari yang ditutupi kain hitam untuk menyerap panas secara sempurna sehingga dapat mengurangi kadar air pada simplisia yang terkandung dalam simplisia dan mencegah penurunan mutu atau kerusakan pada simplisia (15). Daun yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara diblender sampai menjadi serbuk diayak menggunakan ayakan nomor 40 Mesh. Simplisia selanjutnya disimpan dalam wadah yang tertutup rapat hal ini supaya simplisia tidak rusak dalam proses penyimpanan. Berikut merupakan hasil serbuk daun Jeruk Bali

3. Ekstraksi Simplisia

Simplisia daun jeruk bali (*Citrus maxima*) diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun jeruk bali (*Citrus maxima*) didalam toples kaca kedap udara menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dan remaserasi selama 2 hari. Remaserasi bertujuan untuk menyari zat-zat kimia yang masih tertinggal. Selama proses maserasi

dilakukan pengadukan selama 1 jam setiap interval waktu 24 jam pada suhu kamar (15-30°C) untuk menyeimbangkan konsentrasi larutan di luar sel serbuk simplisia dengan didalam sel serbuk simplisia dan kemudian didiamkan. Ekstrak kental diperoleh dari filtrat yang dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan kecepatan 70-80 rpm dan suhu 60°C, dengan prinsip dasarnya agar terjadi penurunan tekanan pada sistem yang menyebabkan turunnya titik didih pada pelarut sehingga dapat diuapkan pada suhu dibawah titik didih pelarut etanol 96%, lalu dituang ke dalam cawan dan diuapkan di dalam oven dengan suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak yang kental.

4. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak

Standarisasi merupakan serangkaian prosedur yang dilakukan sebagai upaya penetapan mutu baik dari simplisia secara kimiawi, fisik, dan mikrobiologi (16).

Uji Parameter Spesifik

Parameter lain yang termasuk dalam uji spesifik adalah skrining fitokimia. Uji skrining fitokimia yaitu uji kandungan kimia yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak secara kualitatif (11). Uji skrining fitokimia meliputi identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) seperti yang tertera pada (tabel 6).

Tabel 6. Uji skrining fitokimia daun jeruk bali (*Citrus maxima*)

Metabolit sekunder	Daun Ekstrak daun Jeruk Bali
Alkaloid	
-Meyer	+
-Dragendorff	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Steroid	+
Minyak atsiri	+

Keterangan : (+) terdeteksi; (-) tidak terdeteksi

Hasil uji kualitatif melalui skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun Jeruk Bali positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan minyak atsiri. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Adrianto, dkk (2014) (8) bahwa daun jeruk bali mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan minyak atsiri.

Uji Kadar Air

Uji kadar air terhadap simplisia dan ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*). Pengukuran kadar air ini untuk memberikan batasan yang maksimal kandungan air pada sampel, karena jumlah air yang tinggi dapat mudah

bertumbuhnya bakteri dan jamur sehingga dapat merusak senyawa yang terkandung dalam sampel. Hasil uji kadar air pada simplisia daun jeruk bali (*Citrus maxima*) menunjukkan kadar air sesuai batas persyaratan standar yang berlaku adalah $\leq 10\%$ (17). Sedangkan pada ekstrak etanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) ini merupakan ekstrak kental dengan batas persyaratan kadar air adalah $<10\%$ (11). Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi ($>10\%$) dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas dari ekstrak (16).

5. Nanopartikel Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dibuat dengan metode gelasi ionik. Metode gelasi ionik didasarkan interaksi elektrostastik antara gugus amina kitosan dengan gugus natrium triopoliphosphate (NaTPP). Proses pembuatan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali dilakukan dengan cara mereaksikan campuran kitosan dalam asam asetat glasial 1%, dengan ekstrak etanol daun jeruk bali dan natrium tripoliphosphate (NaTPP). Pada penelitian ini menggunakan kitosan 0,08% dan NaTPP 0,1%. Penggunaan kitosan dan NaTPP dalam pembuatan nanopartikel dapat mempengaruhi ukuran dari partikel, dan menghasilkan efisiensi penyerapan paling baik dengan struktur nanopartikel yang kompak (Zhang, 2004).

Pencampuran kitosan dengan ekstrak etanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dan natrium tripoliphosphate (NaTPP), dilakukan secara bertahap. Larutan kitosan 0,08% sebanyak 75 mL ditambah dengan tween 80 sebanyak 1 mL dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Penambahan tween 80 berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan, dan memperkecil ukuran partikel dalam larutan.

Kemudian pada larutan kitosan 0,08%, ditambahkan masing-masing konsentrasi sebanyak 5 mL ekstrak daun jeruk bali yang telah dilarutkan etanol p.a dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan larutan NaTPP 0,1% sebanyak 20 mL dan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 4000 rpm selama 90 menit. Selama proses pencampuran larutan, peningkatan kecepatan dalam pengadukan bertujuan memperkecil ukuran partikel. Hal ini semakin cepat proses pengadukan maka semakin kecil ukuran partikel dalam larutan. Sehingga penelitian ini menghasilkan larutan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali masing-masing konsentrasi sebanyak 100 mL (10).



Gambar 2. Larutan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*.)

Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi nanopartikel dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) dilakukan untuk mengukur ukuran dari partikel dan distribusi ukuran. Indeks polidispersitas adalah jumlah yang dihitung dari dua parameter sederhana untuk data korelasi (cumulants) dan sebagai tolak ukur atau parameter yang menyebutkan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel (13).

Hasil uji PSA (*Particle Size Analyzer*) menunjukkan ukuran partikel sebesar 208,3 nm hal ini sesuai dengan parameter yang telah ditentukan, suatu partikel sebagai nanopartikel yaitu berukuran sekitar 10-1000 nm (12). Sedangkan pada indeks polidispersitas menunjukkan nilai sebesar 0,267 hal ini menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit.

Ukuran partikel 100-300 nm, memiliki nilai indeks polidispersitas dibawah 0,3 maka dapat dikatakan memenuhi ketentuan (18). Indeks polidispersitas digunakan untuk memperkirakan rentang distribusi ukuran partikel yang ada dalam suatu sampel dan mengetahui ada tidaknya agregasi. Nilai indeks polidispersitas yang kecil berarti nanopartikel yang terbentuk memiliki rentang distribusi ukuran yang pendek atau tingkat keseragaman dalam partikel memenuhi ketentuan (19).

6. Uji Larvasida terhadap Larva *Aedes aegypti*

Dalam penelitian hewan uji yang digunakan adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebanyak 20 ekor di adaptasi dalam setiap konsentrasi. Larva *Aedes aegypti* dibutuhkan secara keseluruhan sebanyak 720 ekor. Larutan konsentrasi masing-masing adalah 240 $\mu\text{g/mL}$, 360 $\mu\text{g/mL}$, 480 $\mu\text{g/mL}$, 600 $\mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ kontrol positif (abate) serta konsentrasi 0 $\mu\text{g/mL}$ sebagai kontrol negatif yang hanya berisi air sumur dan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III tanpa penambahan larutan nanopartikel dan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*). Pengujian ini menggunakan kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif digunakan untuk menguji pengaruh lain diluar larutan uji nanopartikel dan ekstrak seperti kondisi air sumur yang dapat menyebabkan kematian pada larva. Uji larvasida dilakukan dengan 3 kali replikasi pada masing-masing perlakuan untuk mendapatkan keakuratan dan perolehan data yang baik.

Total kematian dan persentase kematian larva *Aedes aegypti* instar III menunjukkan bahwa semakin

tinggi konsentrasi yang diberikan, maka cenderung semakin banyak larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Adhli (2014) bahwa pada konsentrasi 600 µg/mL menunjukkan persentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* cukup tinggi yaitu 55% dalam bentuk ekstrak.

Hasil uji larvasida yang dilakukan didapatkan hasil bahwa ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki nilai LC_{50} sebesar 462,667 µg/mL, sedangkan nanopartikel nilai LC_{50} sebesar 122,667 µg/mL. Pengujian larvasida terhadap ekstrak dan nanopartikel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) ke 2 nya menunjukkan nilai dibawah <1000 µg/mL (LC_{50} <1000 µg/mL). Sehingga dapat dikatakan ekstrak dan nanopartikel daun jeruk bali (*Citrus maxima*) pada penelitian memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Pada nanopartikel ekstrak daun jeruk bali memiliki nilai LC_{50} yang kecil dibandingkan ekstrak daun jeruk bali. Hal ini menunjukkan nanopartikel mempunyai daya biolarvasida yang tinggi yaitu 300 kali lipat sebagai larvasida dibandingkan ekstrak. Perbedaan hasil tersebut karena adanya perbedaan ukuran partikel dari senyawa metabolit sekunder. Dimana nanopartikel daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki ukuran partikel sebesar 208,3 nm (<1000 nm) hal ini menyebabkan nanopartikel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) lebih mudah masuk ke dalam tubuh dan merusak jaringan tubuh larva *Aedes aegypti*, sehingga nanopartikel ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) memiliki efektivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* lebih besar dibandingkan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*).

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa hasil uji larvasida nanopartikel ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) memiliki nilai LC_{50} yang kecil terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} sebesar 122,667 µg/mL diikuti dengan ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dengan nilai LC_{50} sebesar 462,667 µg/mL. Hasil perbandingan antara kedua sampel pada konsentrasi 240, 360, 480, 600 µg/mL ekstrak dan nanopartikel ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) mempunyai perbedaan dibuktikan dengan nilai signifikan ($p < 0,05$) yaitu 0,000.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian terhadap ekstrak daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dengan menggunakan metode destilasi sehingga dapat diperoleh Senyawa minyak atsiri lebih optimal yang berperan sebagai senyawa larvasida dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bentuk sediaan ekstrak dan nanopartikel daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) yang paling efektif, stabil dan mudah digunakan sebagai larvasida dan tingkat keamanannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Amin, H. 2013. Perkembangan Mutakhir Vaksin Demam Berdarah Dengue. *eJournal Kedokteran Indonesia Volume 12 Nomor 1*. hal 226-233.
2. Candra, A. 2010. Demam Berdarah Dengue: Epidemiologi, Patogenesis dan Faktor Risiko Penularan. *Journal Aspirator Volume 2 Nomor 2*. hal 16-24.
3. World Health Organization dan Regional Office for South-East Asia. 2011. *Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. South-East Asia: WHO.
4. Priesley, F. Mohammad, R, dan R. R. Selfi. 2018. Hubungan Perilaku Pemberantasan Sarang Nyamuk Dengan Menutup, Mengurus dan Mendaur ulang plus (PSN 3M Plus) Terhadap Kejadian Demam Berdarah Dengue (DBD) di Kelurahan Andalas. *Jurnal Kesehatan Andalas Volume 7 Nomor 1*. hal 124-130.
5. Teenyson, S. Samraj, D. A. Jeyasundar, D. Chalieu, K. College, M. C, dan Nadu, T. 2013. Larvicidal Efficacy *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae). *Midle-East Journal of Scientific Research*, 5 (4): 64-68.
6. Pratiwi, A. 2014. Studi deskriptif penerimaan masyarakat terhadap larvasida alami. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*, 3(2): 1-10.
7. Adrianto, H, Arif, N. M. A, dan Hamidah. 2018. Potensi Larvasida dari Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap Larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. *Jurnal Vektor Penyakit*, 12(1): 19-24.
8. Adrianto, H., Subagyo, Y, dan Hamidah. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus amblycarpa*) dan Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Vektor Penyakit*, 6(1): 1-6.
9. Kurniawati, D. S., Nandia. A. 2019. Aktivitas antioksidan krim kombinasi ekstrak *Eucheuma Cuttoni Sumbawa* dan ekstrak *Citrus lemon L.* impor dengan metode DPPH. *Health Sciences and Pharmacy Journal Volume 3 Nomor 1*. hal 29-33.
10. Kumowaal, S., Fatimah dan J. Imam. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alphina galanga(L) Willd*) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumonie*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(4): 2302-2493.

11. Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
12. Jonassen, H.,2014. *Polysaccharide Base Nanopartike for Drug Delivery Aplikasi*. Thesis SSchool of Pharmacy. University of Olso.
13. Asfari, S. 2015. Preparasi dan Karaterisasi Nanopartikel Zink Pekinat Mengandung Diltiazem Hidroklorida dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Progam Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
14. Ibrahim, N., Jalaluddin., dan Nurul.R. 2018. Pengaruh Waktu Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Pelarut n-Heksan terhadap Rendeman Minyak. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 7(2): 163-171.
15. Sakka, L. 2018. Pengaruh waktu, temperatur, dan jenis pelarut terhadap ekstraksi pektin dari kulit jeruk bali . *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis* ,12(6) : 2302-2531.
16. Saifudin, A. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam Edisi Pertama*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
17. Febriani, L. R., Suhaimi. Wilda. W. 2018. Penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak etanol daun krotom (*Mitragyna speciosa Korth*) yang tumbuh di kabupaten kapuas hulu dan kabupaten melawi. *Jurnal insan farmasi indonesia Volume 1 Nomor 1*. hal 72-84.
18. Abdassah, M. 2012. Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Jurnal Farmaka*,15(1) : 45-50.
19. Napsah, R., & Wahyuningsih, I. 2013. Preparasi Nanopartikel Kitosan-TPP Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota (*Phaleriamacrocarpa* (Scheff) Boerl) dengan Metode Gelasi Ionik . *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 11(1) : 7-12.