

PENELITIAN ILMIAH

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL BUAH PARE (*MOMORDICA CHARANTIA*) SEBAGAI LARVASIDA TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI MIDGUT LARVA *AEDES AEGYPTI*

*The effect of methanol Extracts of Bitter
Melon (*Momordica charantia*) as
larvaside To Histopathology Changes Of
Aedes aegypti Midgut*

Ainun Masfufah*) Riyadatus Solihah
*) *Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
(STIKes) Ngudia Husada Madura*

ABSTRACT

Aedes aegypti acts a vector of dengue fever disease. Chemical pesticide application caused *A. aegypti* resistancy. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract is valuable as an alternative pesticide replacing synthetic pesticide. The aims of this research are to find out the existence of larvicidal properties of fruit extract of *Momordica charantia* on *Aedes aegypti* larvae and to define the histopathological midgut changes of *Aedes aegypti* larvae. This research is an experimental research laboratory using post-test only control group design. Bitter melon fruit extract was tested in a concentration of 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 0 ppm (negative control), and temephos 1 ppm (positive control). The results showed that the LC50 value was 1833,295 ppm and LC90 value was 2467,264 ppm. Results of ANOVA showed the effect of bitter melon fruit extract

concentrations against mortality of *Aedes aegypti* larvae with $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Midgut histopathological observations showed damage to the membrane of peritrophic, epithelial cells, and the basement membrane of midgut at different levels of concentration of bitter melon fruit extract, whereas the positive control midgut condition was normal as in the negative control (0 ppm). It was concluded that the extract of bitter melon fruit was effective as larvicide and affect to histopathological midgut of *Aedes aegypti* larvae.

Keywords: Bitter melon (*Momordica charantia*) extract, larvicide, midgut histology, *Aedes aegypti*.

Correspondence : Ainun Masfufah, Jl. R.E. Martadinata Bangkalan, Indonesia.

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Penyakit ini timbul sebagai wabah untuk pertama kalinya di Surabaya pada tahun 1968 dan semenjak saat itu angka kejadian penyakit DBD terus meningkat dan menyebar ke seluruh daerah kabupaten seiring dengan semakin meluasnya daerah endemis DBD di wilayah Indonesia. Jumlah penderita DBD di Indonesia yang dilaporkan

pada tahun 2013 sebanyak 112.511 kasus dengan jumlah kematian 871 orang (*Incidence Rate/* Angka kesakitan= 45,85 per 100.000 penduduk dan CFR/ angka kematian= 0,77%). Terjadi peningkatan jumlah kasus pada tahun 2013 dibandingkan tahun 2012 yang sebesar 90.245 kasus dengan IR 37,27 (Kemenkes RI, 2014). Penyakit ini tidak hanya sering menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB), tetapi juga memberi dampak buruk bagi keadaan ekonomi dan sosial karena dapat menimbulkan kerugian pada individu, keluarga, dan

masyarakat (Kemenkes RI, 2014).

Untuk mengatasi masalah penyakit demam berdarah di Indonesia telah dilakukan berbagai upaya, tetapi hasilnya masih belum optimal. Secara teoritis ada empat cara untuk memutuskan rantai penularan DBD, yaitu dengan cara : 1) melenyapkan virus, 2) isolasi penderita, 3) mencegah gigitan nyamuk, dan 4) pengendalian vektor (Purnama, 2017). Hal lain yang dapat dilakukan untuk memutus rantai penularan DBD adalah dengan cara pengendalian vektor. Pengendalian vektor DBD banyak dilakukan karena cara ini dirasa paling efektif untuk membantu memutuskan rantai penularan DBD di Indonesia. Secara garis besar ada empat cara pengendalian vektor yaitu dengan cara : 1) kimiawi, 2) radiasi, 3) mekanik/ pengelolaan lingkungan, dan 4) pengendalian hayati/ biologi (Purnama, 2017).

Pengendalian vektor secara kimiawi menggunakan insektisida, akan tetapi hal ini dirasa masih kurang efektif karena pengendalian vektor dengan cara kimia mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan dan dapat mengakibatkan resistensi serangga terhadap insektisida. Adapun efek yang sering ditimbulkan pada manusia adalah terjadinya akumulasi di dalam tubuh manusia karena beberapa insektisida dari golongan organochlorin mempunyai sifat dapat ditimbun di dalam jaringan bahan-bahan makanan manusia dan sering terjadi keracunan hingga kematian akibat penggunaan insektisida tersebut (Ambarita, 2015). Alternatif lain adalah pengendalian vektor secara hayati/ biologi yang menggunakan bahan alam sangat aman karena mudah didegradasi secara alami dan dampak negatif misalnya resistensi dan terbunuhnya organisme lain yang bukan sasaran tidak dijumpai. Pengendalian vektor secara hayati/ biologi menggunakan bahan alam juga sangat aman dilakukan karena tidak bersifat toksik terhadap manusia (Ursha & Supraja, 2013).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai larvasida adalah tanaman pare (*Momordica*

charantia). Berdasarkan penelitian Ursha dan Supraja (2013), dibuktikan pula bahwa ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Senyawa- senyawa yang terkandung dalam buah pare tersebut dapat berperan sebagai biolarvasida (Ursha & Supraja, 2013).

Selama ini telah banyak peneliti yang melakukan pengujian pengaruh berbagai jenis tanaman sebagai biolarvasida terhadap berbagai serangga, namun biasanya hanya diarahkan dengan maksud untuk mendapatkan konsentrasi efektif yang dapat menyebabkan mortalitas tinggi dari serangga uji, sedangkan bagaimana cara kerja dan efek fisiologisnya terhadap serangga uji belum banyak dilakukan (Suminar, 2014). Oleh karena itu, maka perlu untuk dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) sebagai biolarvasida terhadap perubahan histologi usus tengah (*midgut*) larva nyamuk *Aedes aegypti*. Senyawa biolarvasida yang terkandung di dalam ekstrak buah pare ini diharapkan dapat dijadikan alternatif dalam upaya penanggulangan vektor penyakit DBD yaitu *Aedes aegypti* dengan harga yang lebih murah, hasil yang lebih efektif, dan tidak memberi dampak buruk terhadap lingkungan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan penelitian *post-test only control group design* untuk penelitian larvasida dan pengamatan histopatologi sel epitel *midgut* terhadap larva *Aedes aegypti* instar III, dimana penelitian dilakukan setelah adanya perlakuan/ intervensi yang diberikan.

Populasi dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III karena larva *Aedes aegypti* telah memiliki alat tubuh yang kuat, lengkap, dan stabil terhadap pengaruh luar (Suminar, 2014). Besar sampel sesuai standar WHO untuk uji toksisitas yaitu sebanyak 25 ekor per kelompok. Penelitian ini menggunakan enam perlakuan, sehingga banyaknya

replikasi yang dilakukan adalah empat kali berdasarkan rumus federer.

Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan, yaitu pada bulan November 2017 – Januari 2018. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik STIKES Ngudia Husada Madura.

Pengumpulan Bahan dan Pembuatan Ekstrak

Sampel yang digunakan adalah buah pare segar berwarna hijau yang memiliki panjang dan diameter buah yang hampir sama (30-35 cm dan 4-5 cm). Buah dibersihkan, dibuang bijinya, kemudian buah diiris tipis. Selanjutnya irisan buah pare dikeringkan anginkan selama 1 bulan. Pengeringan dianggap selesai apabila bahan sudah dapat pecah atau patah apabila diremas dengan tangan. Setelah kering, buah pare dihaluskan dengan cara diblender sampai menjadi serbuk (simplisia). Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sampel berupa serbuk buah pare dimasukkan ke dalam toples kaca lalu direndam (maserasi) dengan pelarut metanol, kemudian ditutup rapat dan dibiarkan selama satu minggu. Tiap tiga hari sekali diaduk. Setelah satu minggu, maserat diambil, disaring, ditampung dalam toples kaca 1000 ml. Hasil filtrat yang ditampung dalam toples kaca kemudian diuapkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental yang mengandung senyawa bioaktif dan metanol secara terpisah. Kemudian hasil ekstrak diambil dan diletakkan ke dalam gelas (Suminar, 2014).

Koleksi Larva

Larva *Aedes aegypti* didapat dari Laboratorium Entomologi *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga dengan surat keterangan bebas dari infeksi virus dengue. Larva instar III diamati ketika larva sudah memiliki panjang tubuh sekitar 4 mm (Suminar, 2014).

Uji Larvasida

Melakukan uji pendahuluan dengan tujuan untuk mendapatkan konsentrasi terendah yang tidak menyebabkan kematian larva dan

konsentrasi tertinggi yang dapat menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 100%. Penentuan konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil uji coba pada berbagai konsentrasi. Penelitian pendahuluan ini menggunakan ekstrak buah pare dengan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, dan 5000 ppm. Sedangkan untuk uji sesungguhnya penelitian ini menggunakan konsentrasi 0 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, dan temephos sebagai control positif.

Penelitian ini menggunakan satuan konsentrasi ppm, dengan cara mencampurkan ekstrak (dalam mg) ke dalam pelarut air mineral (1000 ml). Pembuatan lima konsentrasi ekstrak dibuat larutan induk terlebih dahulu dari konsentrasi yang paling tinggi. Kemudian dibuat lima konsentrasi dengan rumus pengenceran. Ekstrak (dalam mg) dicampurkan larutan tween 20 sebanyak 500 µl sebelum dilarutkan dengan air mineral agar ekstrak tidak membentuk gumpalan-gumpalan saat pemberian air mineral, lalu dicampurkan dalam 1000 ml air mineral, dibuat dalam berbagai konsentrasi yang diletakkan di dalam gelas-gelas plastik. Dibuat larutan dari masing-masing ekstrak sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Masing-masing konsentrasi dibuat empat kali pengulangan. Untuk kelompok kontrol negatif menggunakan air mineral 1000 ml yang ditambahkan dengan tween 20 sebanyak 500 µl, sedangkan kelompok kontrol positif menggunakan air mineral 1000 ml ditambahkan temephos 1 mg.

Sebanyak 100 ml ekstrak dari setiap konsentrasi ditempatkan dalam gelas plastik. Kemudian 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke dalam masing-masing gelas. Larva dipindahkan secara hati-hati menggunakan pipet plastik. Setelah 24 jam, larva *Aedes aegypti* yang mati dihitung. Larva yang mati dapat diketahui ciri-cirinya misalnya yang tidak bergerak atau kaku. Untuk memastikan bahwa larva benar-benar

mati, maka air di sekitar larva disentuh dan digerakkan menggunakan pipet plastik sehingga gerakan air menyebabkan larva yang masih hidup bergerak. Larva yang tidak bergerak setelah perlakuan ini menunjukkan bahwa larva mati.

Pengamatan Histopatologi Midgut Larva *Aedes Aegypti*

Sediaan histopatologi midgut larva *Aedes Aegypti* dibuat dengan metode parafin blok.

Fiksasi

Jaringan larva difiksasi dengan larutan formalin selama 24 jam.

Dehidrasi dan Clearing

Dehidrasi jaringan menggunakan etanol bertingkat. Pertama kaset dipindahkan ke dalam etanol 70%, 4 kali pemindahan masing-masing selama 30 menit. Kemudian berturut-turut dipindahkan ke etanol 80% (2 kali pemindahan) masing-masing selama 30 menit, etanol 96% (1 kali) selama 30 menit, dan etanol absolut (2 kali) selama 30 menit. Pada tahap clearing larva dimasukkan ke dalam xylol I selama 30 menit dan kemudian dipindahkan ke dalam xylol II selama semalam (*overnight*).

Embedding

Larva dipindahkan berturut-turut ke dalam xylol-paraffin selama 30 menit, kemudian ke dalam paraffin I, II, dan III, masing-masing selama 1 jam. Kotak-kotak kertas (cetakan untuk *embedding*) disiapkan dan diisi dengan paraffin cair, dan segera dipindahkan larva dalam kaset ke dalam paraffin (*embedding*). Larva diletakkan dengan posisi tegak, bagian kepala berada di bawah dan ekor berada di atas. Paraffin dibiarkan semalaman agar membeku dan membentuk paraffin blok.

Sectioning

Sectioning adalah pemotongan jaringan larva. Blok yang sudah ditempel pada holder, siap untuk dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom. Lokasi *midgut* berada pada

potongan ke 11 atau 12 hingga potongan ke 18 atau 20. Pita paraffin yang dihasilkan selanjutnya dimasukkan dalam waterbath dan kemudian diletakkan pada *object glass*.

Staining

Staining adalah proses pewarnaan preparat jaringan. Deparafinisasi dalam xylol (2 kali) masing-masing selama 10 menit. Rehidrasi dalam etanol bertingkat berurutan etanol absolute, 96%, 80%, 70% masing-masing selama 5 menit. Dipindahkan ke pewarna hematoxylin selama 10 menit. Dimasukkan ke dalam etanol asam (1% HCl dalam 70% etanol) selama 30 detik. Dipindahkan ke pewarna 0,5% eosin selama 5 menit. Dehidrasi dengan etanol bertingkat, berturut-turut 70%, 80%, 96%, dan absolute masing-masing selama 5 menit. Dipindahkan ke xylol I kemudian ke xylol II masing-masing selama 10 menit, tetesi dengan entellant, tutup dengan gelas penutup. Perak dapat dikeringkan dengan dibiarkan dalam ruangan suhu udara.

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Larvasida

Uji larvasida diberikan pada stadium larva *Aedes aegypti* instar III dengan menggunakan ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia*) dengan lima konsentrasi, yaitu 0 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, dan 2500 ppm. Konsentrasi ini didapat dari hasil uji pendahuluan dengan cara menguji ekstrak metanol buah pare pada berbagai tingkatan konsentrasi, yaitu dari konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, dan 5000 ppm. Hasil uji pendahuluan ekstrak metanol buah pare yang diberikan pada larva *Aedes aegypti* instar III selama 24 jam menunjukkan kematian larva dengan jumlah kematian terendah pada konsentrasi 1000 ppm dan jumlah kematian tertinggi pada 2500 ppm.

Hasil Pengamatan Histopatologi Midgut Larva *Aedes Aegypti*.

Larva *Aedes aegypti* pada

kontrol negatif dan kontrol positif tidak mengalami kerusakan *midgut*, sedangkan larva pada kelompok perlakuan ekstrak buah pare dengan konsentrasi 1000 ppm mengalami kerusakan ringan, konsentrasi 1500 ppm dan 2000 ppm mengalami kerusakan sedang, dan konsentrasi 2500 ppm mengalami kerusakan berat.

Analisis Probit

Analisis probit dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia*) yang dapat menyebabkan mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III. Konsentrasi yang ingin diketahui tersebut lebih dikenal dengan sebutan LC (*Lethal Concentration*). Pada penelitian ini akan dicari LC₅₀ dan LC₉₀ dari ekstrak metanol buah *Momordica charantia* terhadap larva *Aedes aegypti*. Berdasarkan hasil analisis probit didapatkan bahwa ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia*) memiliki nilai LC₅₀ sebesar 1833,295 ppm dan LC₉₀ sebesar 2467,264 ppm.

Uji Statistik

Analisis varian bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan beberapa konsentrasi terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III. Data yang sudah diperoleh (data konsentrasi, total larva yang diuji, dan jumlah kematian larva) dianalisis dengan SPSS. Hasil analisis menunjukkan bahwa $p > 0,05$, yang berarti data berdistribusi normal dan memenuhi persyaratan untuk dilanjutkan ke uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), artinya ekstrak buah *Momordica charantia* berpengaruh terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III. Setelah itu dilakukan uji lanjutan untuk menentukan konsentrasi yang berbeda. Uji lanjutan memerlukan uji homogenitas. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai $p = 0,076$ ($p > 0,05$), artinya data bersifat homogen. Data yang bersifat homogen dapat dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test

– LSD untuk mengetahui letak beberapa konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji hayati, menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) berbanding lurus dengan angka kematian larva *Aedes aegypti* instar III. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah pare yang diberikan, maka jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III juga semakin meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) bersifat toksik terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Sehingga penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia*) efektif sebagai larvasida *Aedes aegypti*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) memiliki LC₅₀ sebesar 1833,295 ppm dan LC₉₀ sebesar 2467,264 ppm terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Hasil ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Nugrahani (2012), yang menjelaskan bahwa ekstrak buah pare yang digunakan sebagai larvasida terhadap *Aedes aegypti* instar III memiliki LC₅₀ sebesar 3297,1 ppm dan LC₉₀ sebesar 5157,8 ppm. Hasil ini juga berbeda jika dibandingkan dengan hasil penelitian Angela (20), dimana ekstrak buah pare yang digunakan sebagai larvasida *Aedes aegypti* instar III memiliki LC₅₀ sebesar 1209,3 ppm dan LC₉₀ sebesar 1382,3 ppm. Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan asal buah pare yang digunakan dalam penelitian, dimana masing-masing peneliti menggunakan pare dari tempat/ daerah yang berbeda. Menurut Suminar (2014), kondisi lingkungan asal tanaman yang berbeda ikut mempengaruhi sifat-sifat tanaman serta bahan atau senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Berdasarkan hasil pengamatan

histopatologi , kerusakan *midgut* larva *Aedes aegypti* tiap konsentrasi berbeda, Kelompok kontrol negatif menunjukkan tidak ada kerusakan pada semua jaringan *midgut*. Hal ini ditunjukkan dari membran peritrofik yang masih utuh, sel epitel *midgut* yang masih utuh, inti sel masih tetap berada di dalam sel, dan membran basalis yang masih utuh juga. Pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat kerusakan *midgut* karena pada kelompok ini larva tidak mengkonsumsi senyawa larvasida dari ekstrak buah pare (*Momordica charantia*). Pada larva yang mati setelah terpapar ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) selama 24 jam, *midgut* larva pada konsentrasi 1000 ppm mengalami kerusakan ringan dimana membran peritrofik, sel epitel *midgut*, dan membran basalis mengalami kerusakan hanya sebagian kecil dan inti sel hanya sedikit yang keluar dari sel epitel yang sudah rusak dan mengarah ke arah lumen.

KESIMPULAN

Terdapat perubahan histologi saluran pencernaan *midgut* pada larva *Aedes aegypti* instar III setelah terpapar ekstrak buah pare (*Momordica charantia*). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) maka semakin berat kerusakan yang terjadi pada *midgut* larva *Aedes aegypti* instar III.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarita L., Pengendalian Vektor Nyamuk Menggunakan Serangga Mandul. 2015. BALABA Vol.11.No2.
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, 2013. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2013, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- Nugrahani K., 2012. Penggunaan Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Biolarvasida dalam Upaya Pengendalian Vektor Nyamuk *Aedes aegypti*. Skripsi. Yogyakarta : Duta Wacana Christian University

- Purnama G .,2017. Diktat Pengendalian Vektor. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana.Bali
- Suminar Ervi. 2014. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Jeruk Purut Sebagai Biolarvasida. Universitas Airlangga
- Supraja P dan Ursha. 2013. Antibacterial and Phytochemical Screening From Leaf And Fruit Extract Of *Momordica Charantia*. Int J Pharm Bio.Sci. ISSN. 0975-6299.