

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH LADA HITAM  
(*Piper nigrum*) TERHADAP MORTALITAS DAN  
PERUBAHAN MORFOLOGI MIDGUT  
LARVA *Aedes aegypti***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**SABRINA NAILA DASTIANA  
1917021061**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH LADA HITAM  
(*Piper nigrum*) TERHADAP MORTALITAS DAN  
PERUBAHAN MORFOLOGI MIDGUT  
LARVA *Aedes aegypti***

Oleh

**SABRINA NAILA DASTIANA**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH LADA HITAM (*Piper nigrum*) TERHADAP MORTALITAS DAN PERUBAHAN MORFOLOGI MIDGUT LARVA *Aedes aegypti*

Oleh

SABRINA NAILA DASTIANA

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor penyebab Demam Berdarah Dengue (DBD). Pengendalian vektor DBD biasanya bergantung pada larvasida sintetik. Tetapi hal ini berisiko menyebabkan resistensi serangga dan meninggalkan residu polutan kimiawi. Sehingga dibutuhkan larvasida alami yang ramah lingkungan dan tidak menyebabkan resistensi. Buah lada hitam (*Piper nigrum*) diduga mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai biolarvasida *Aedes aegypti*. Tujuan penelitian ini adalah menguji efektivitas ekstrak etanol buah lada hitam terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* dan mengetahui pengaruh paparan ekstrak terhadap perubahan *midgut* larva. Penelitian menggunakan metode rancangan acak lengkap dengan lima kelompok percobaan dan empat pengulangan sebagai berikut: K (Aquades + 0% ekstrak), P1 (0,25% ekstrak), P2 (0,50% ekstrak), P3 (0,75% ekstrak), P4 (1% ekstrak). Data dianalisis dengan *One-way ANOVA* dan efektivitas ekstrak dilanjutkan ke uji *Post hoc LSD* sehingga diperoleh konsentrasi efektif. Perubahan morfologi *midgut* larva diamati secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar. Hasil penelitian menunjukkan setelah paparan 24 jam efektivitas ekstrak tertinggi pada konsentrasi 1% sebesar 93% mortalitas dan efektivitas terendah pada konsentrasi 0,25% sebesar 43% mortalitas. Ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) mempengaruhi perubahan morfologi *midgut* larva *Aedes aegypti* ditandai dengan kerusakan membran perifer, adanya penipisan mikrovili, pembengkakan sel epitel dan vakuolasi sel, serta kerusakan membran basalis.

**Kata kunci:** *Piper nigrum*, biolarvasida, mortalitas, *midgut*  
*Aedes aegypti*.

## ABSTRACT

### EFFECTIVITY TEST OF BLACK PEPPER (*Piper nigrum*) ETHANOL EXTRACT ON *Aedes aegypti* LARVAL MORTALITY AND ITS MIDGUT MORPHOLOGICAL CHANGES

By

SABRINA NAILA DASTIANA

*Aedes aegypti* is the vector of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). Dengue vector management usually depends on synthetic larvicides. However, it can lead to insect resistance and leave chemical pollutant residues. Therefore natural larvicides are needed for their environmentally friendly and do not induce insect resistance. Black pepper (*Piper nigrum*) fruit is expected to contain secondary metabolites beneficial as larvicides to *Aedes aegypti*. This study aims to test the effectivity of the ethanol extract of black pepper fruit on the mortality of *Aedes aegypti* larvae and determine the effect of extract exposure on larval midgut morphological changes. The study used a completely randomized design with five experimental groups and four repetitions as follows: K (aquades + 0% extract), P1 (0.25% extract), P2 (0.50% extract), P3 (0.75% extract), P4 (1% extract). The data were analyzed using One-way ANOVA and continued with the Post hoc LSD test to obtain an effective concentration. Changes in the morphology of larval midgut were observed descriptively and presented in the form of tables and figures. The results showed that after 24 hours of exposure, the highest effectiveness of the extract at a concentration of 1% was 93% mortality and the lowest effectiveness was at a concentration of 0.25% at 43% mortality. The ethanol extract of black pepper (*Piper nigrum*) fruit affected midgut morphological changes of *Aedes aegypti* larvae characterized by peripheral membrane damage, microvilli thinning, epithelial cell swelling and vacuolation, and basement membrane damage.

**Keywords:** *Piper nigrum*, biolarvicide, mortality, midgut of *Aedes aegypti*.

Judul Skripsi : **UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK  
ETANOL BUAH LADA HITAM  
(*Piper nigrum*) TERHADAP  
MORTALITAS DAN PERUBAHAN  
MORFOLOGI MIDGUT LARVA  
*Aedes aegypti***

Nama Mahasiswa : Sabrina Naila Dastiana

NPM : 1917021061

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Pembimbing I

Pembimbing II

  
**Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**  
NIP. 195806151986032001

  
**Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc.**  
NIP. 199105212019032020

2. Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Unila

  
**Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198301312008121001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

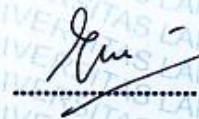
**Ketua : Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**



**Sekretaris : Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc.**



**Anggota : Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**

**NIP. 197110012005011002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 14 September 2023**

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sabrina Naila Dastiana  
NPM : 1917021061  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul “ Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*) Terhadap Mortalitas dan Perubahan Morfologi *Midgut* Larva *Aedes aegypti* ” Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Skripsi ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 12 Oktober 2023

Menyatakan,



Sabrina Naila Dastiana

NPM. 1917021061

## RIWAYAT HIDUP



Sabrina Naila Dastiana lahir dan besar di Kota Bandar Lampung. Penulis merupakan anak sulung dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak Dasuki dan Ibu Ngatini. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswi Program studi S1-Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur seleksi UTBK (SBMPTN).

Selama menempuh studi, penulis mengikuti sejumlah perlombaan. Dalam bidang akademik dan kepenulisan, penulis terpilih sebagai peserta tingkat Nasional ON-MIPA bidang Biologi – Pusat Prestasi Nasional (2020), perwakilan tingkat wilayah ON-MIPA bidang Biologi – Pusat Prestasi Nasional (2021), dan peraih Insentif PKM-GT (Inovasi *TNWK Smart Ecotourism* sebagai Strategi Pengembangan Ekowisata di Kawasan Konservasi Taman Nasional Way Kambas TNWK) – Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (2021). Selain itu, penulis turut membantu proses pembelajaran sebagai asisten laboratorium dalam mata kuliah Zoologi Invertebrata – Laboratorium Zoologi (2021), dan Ekologi – Laboratorium Ekologi (2022).

Penulis aktif dalam beberapa kegiatan mahasiswa dan kerelawanan. Penulis tergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) Universitas Lampung sejak 2020. Penulis menjadi anggota Bidang Sains dan Teknologi (Saintek) HIMBIO (2020), kemudian dipromosikan menjadi Bendahara Bidang Saintek HIMBIO (2021). Penulis juga terpilih menjadi sekretaris subkoordinator Olimpiade Biologi Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA) XXV (2021).



Selain itu, penulis aktif dalam organisasi kepemudaan internasional AIESEC Unila (UISA). Penulis menjadi *Organizing Committe Program Summary – Widyawiyata Project* (2021-2022) dan bertanggung jawab terhadap 60 program untuk mempromosikan SDG 4 – *Quality Education*. Kemudian penulis dipromosikan sebagai *Project Manager of Local Project AIESEC – Mahidana Project* (2022-2023) dan bertanggung jawab terhadap 100 mahasiswa lokal & asing untuk mengadakan proyek kerelawanan lingkungan SDG 12 (*Responsible Consumption & Production*) dan SDG 13 (*Climate Action*). Penulis juga berkontribusi sebagai panitia webinar *English Club* oleh *Biology English Club* (BEC) pada 2022. Pada 2023, penulis terpilih menjadi perwakilan mahasiswa Prodi Biologi Universitas Lampung dalam *ASIIN International Accreditaion* (2023). Saat ini penulis aktif sebagai anggota Forum Bank Sampah Provinsi Lampung – Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (2023).

Pada tahun 2021, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Besar Perikanan dan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung dan mempelajari budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* secara kultur jaringan. Selanjutnya penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Margoyoso, Kecamatan Sumber Rejo, Kabupaten Tanggamus, Lampung pada Juli-Agustus 2022. Pengalaman yang telah penulis lalui semata-mata karena kemurahan dan kehendak Allah SWT yang telah memberikan anugerah dan kasih sayang-Nya selama masa studi penulis. Oleh karenanya, penulis berharap semoga Allah selalu meridhai setiap langkah penulis dengan karunia-Nya. *Barakallahu fikum.*

## MOTTO

**” *Be a Force for Good* “**

*\*making commitment to ourselves and to those around us that we'll be part of the solution instead of simply commenting on or adding to the problems themselves.*

**“ *Fortune favors the Bold* “**

*\*there are great rewards for someone who takes risks.*

**“ Dan janganlah kamu (merasa) lemah, dan jangan pula bersedih hati “**

(QS. Al-Imran: 139)

**“ Hatiku tenang karena mengetahui apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukmu tidak akan pernah melewatkanmu “**

- Umar bin Khattab

**“ *Life is a continuous learning process* “**

## PERSEMBAHAN



Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang telah mengizinkan penulis untuk mempersembahkan karya ilmiah sebagai wujud terimakasih, rasa sayang, dan cinta kepada:

**Bapak Dasuki dan Ibu Ngatini**, sosok teladan dalam kehidupan, orangtua yang pekerja keras, penuh kasih, humoris dan suportif. Terimakasih atas seluruh doa, dukungan, dan pengorbanan untuk mendukung Naila selama masa studi.

**Lathifah Zahro Dastinia**, adikku tersayang yang selalu menyemangati dan menghibur selama penyelesaian skripsi. Harapanku semoga kemudahan menyertaimu dalam menyelesaikan studi dan pendidikanmu.

Bapak dan Ibu Dosen atas ilmu, pengalaman, dan bimbingannya selama menjalani studi S1 Biologi.

Alamamater Universitas Lampung, yang telah menyediakan kesempatan bagi penulis untuk menuntut ilmu dan membangun pengalaman selama masa studi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* karena atas karunia dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH LADA HITAM (*Piper nigrum*) TERHADAP MORTALITAS DAN PERUBAHAN MORFOLOGI MIDGUT LARVA *Aedes aegypti***” sebagai syarat bagi penulis untuk mendapatkan gelar sarjana sains di Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Selama penyusunan skripsi banyak pihak telah membantu penulis baik secara materiil maupun moril. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis bermaksud menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Dasuki dan Ibu Ngatini yang tiada henti memberikan dukungan moril, materiil, doa dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan studi dan proses pengerjaan skripsi.
2. Dr. rer. nat. Akmal Junaidi, S.Si., M.Sc. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
3. Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
4. Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Kaprodi S1 Biologi FMIPA Universitas Lampung.
5. Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed selaku dosen pembimbing satu yang telah membimbing, menyarankan, dan mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi.
6. Ibu Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc. selaku pembimbing dua yang telah

mengoreksi, memberikan arahan dan bimbingan selama proses penyelesaian skripsi.

7. Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed. selaku pembahas yang telah memberikan arahan, masukan, dan saran kepada penulis agar penulisan skripsi menjadi lebih baik.
8. Ibu Dra. Tunjung Tripeni Handayani, M.S. selaku dosen pembimbing akademik (PA) yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama proses studi S1 di Universitas Lampung.
9. Ibu Dra. Yulianty, M.Si. dosen pembimbing akademik (PA) yang telah membimbing dan mengarahkan penulis menjelang proses ujian komprehensif.
10. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung atas ilmu, pengalaman, bimbingan, dan motivasi yang telah diberikan sehingga menjadikan penulis insan yang berilmu.
11. Seluruh staf administrasi dan pegawai Jurusan Biologi, Dekanat FMIPA, dan Universitas Lampung yang telah membantu dalam kelancaran proses perkuliahan hingga penyelesaian skripsi.
12. Bapak Ali Bakri, S.P. selaku tenaga laboran Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung yang telah membantu proses penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
13. Adikku, Lathifah Zahro Dastinia dan Milo, kucingku yang telah menghibur dan memberi dukungan psikologis selama proses penyusunan skripsi.
14. Sahabat-sahabatku, Luthfiyyan Nisha, Mala Irma Pramita, Upik Mailiani, yang selalu kebersamai dalam setiap suka-duka proses perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
15. Rekan-rekan penelitian di Laboratorium Zoologi “ *Zoologi Pride Batch 22.23* “ yang telah mendukung selama proses penelitian.
16. Teman-teman seperjuangan yang tergabung dalam “ Keluarga Besar Angkatan Biologi 2019 “ terimakasih telah kebersamai sejak empat tahun lalu sampai sekarang, dan di masa depan. Semoga kesuksesan selalu menyertai teman-teman semuanya hingga di masa yang akan datang.

17. Rekan-rekan yang luar biasa di Kepengurusan Divisi Saintek, HIMBIO 2021-2022, dan AIESEC: IGVast, Latus Pandere, dan GreenPal Team yang telah mengubah penulis menjadi individu yang lebih profesional dan berwawasan sosial.

Akhir kata, penulis memohon maaf apabila ditemukan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi. Kedepannya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan menjadi referensi untuk studi lebih lanjut.

Bandar Lampung, 12 Oktober 2023

Penulis

Sabrina Naila Dastiana

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xx</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	4
1.4 Kerangka Pemikiran .....	4
1.5 Hipotesis Penelitian .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 <i>Aedes aegypti</i> .....	6
2.1.1 Taksonomi <i>Aedes aegypti</i> .....	6
2.1.2 Siklus Hidup dan Morfologi <i>Aedes aegypti</i> .....	7
2.1.3 Saluran Pencernaan <i>Aedes aegypti</i> .....	12
2.1.5 Pengendalian <i>Aedes aegypti</i> .....	15
2.2 Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	16
2.2.1 Morfologi Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	17
2.2.2 Taksonomi Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	18
2.2.3 Kandungan Biokimia Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	19

2.3 Biolarvasida .....	24
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian .....	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.2.1 Alat Penelitian .....	25
3.2.2 Bahan Penelitian.....	26
3.3 Rancangan Penelitian.....	26
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.4.1 Penyediaan dan Persiapan Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	27
3.4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) ..	27
3.4.3 Pengujian Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	28
3.4.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) sebagai Larutan Uji.....	29
3.4.5 Uji Efektivitas Ekstrak terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	30
3.4.6 Persiapan Pembuatan Preparat Jaringan <i>Midgut</i> Larva.....	31
<i>Aedes aegypti</i> setelah diberi Perlakuan Uji.....	31
3.5 Pengamatan.....	32
3.6 Analisis Data.....	33
3.7 Diagram Alir Penelitian .....	34
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	35
4.1.1 Uji Kualitatif Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	35
4.1.2 Uji Mortalitas Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> . .....	37
4.1.3 Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) terhadap Perubahan Morfologi Tubuh dan <i>Midgut</i> Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	41



4.2 Pembahasan .....	44
4.2.1 Potensi Biolarvasida Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	44
4.2.2 Efektivitas Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) dan terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	46
4.2.3 Kerusakan <i>Midgut</i> Larva <i>Aedes aegypti</i> setelah 24 Jam oleh Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	47
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>51</b>
5.1 Simpulan.....	51
5.2 Saran .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Siklus hidup <i>Aedes aegypti</i> .....	7
2. Telur nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	8
3. Morfologi Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	10
4. Identifikasi gigi sisir ( <i>comb scales</i> ) larva <i>Aedes</i> spp. ....	10
5. Morfologi Pupa <i>Aedes aegypti</i> .....	11
6. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	12
7. Segmen tubuh larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	13
8. Sayatan area midgut larva <i>Aedes aegypti</i> diwarnai Hematoksin-Eosin .....	14
9. Tanaman Lada ( <i>Piper nigrum</i> ).....	18
10. Struktur kimia saponin. ....	20
11. Struktur kimia steroid.....	21
12. Struktur kimia terpenoid .....	21
13. Struktur kimia tanin. ....	22
14. Struktur kimia alkaloid.....	23
15. Struktur kimia flavonoid. ....	24
16. Rancangan Penelitian Acak Lengkap (RAL).....	27
17. Grafik persentase rerata mortalitas larva <i>Aedes aegypti</i> terhadap perlakuan ekstrak etanol buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ). ....	37

18. (a) Larva <i>Aedes aegypti</i> normal (kontrol); (b) Larva <i>Aedes aegypti</i> sesudah diberi perlakuan uji. ....	41
19. Mekanisme kerusakan <i>midgut</i> oleh ekstrak buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	48
20. Maserasi buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) dengan etanol. ....	68
21. Penyaringan hasil maserasi. ....	68
22. Evaporasi ekstrak dengan <i>rotary evaporator</i> . ....	69
23. Ekstrak pekat buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ). ....	69
24. Penetasan telur larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	69
25. Larutan berbagai konsentrasi ekstrak (0,25%; 0,50%; 0,75%; 1%) buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	69
26. Proses pengambilan larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	70
27. Pengujian ekstrak buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) terhadap larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	70
28. Pengamatan sediaan histologi larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	70
29. Preparat sediaan histologi larva <i>Aedes aegypti</i> . ....	70

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Prosedur uji fitokimia ekstrak etanol buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	29
2. Volume unit percobaan ekstrak etanol buah lada hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) .....	30
3. Hasil Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ).....	36
4. Hasil Analisis Post-Hoc LSD Mortalitas Larva dalam 30 Menit.....	39
5. Hasil Analisis Post-Hoc LSD Mortalitas Larva dalam 60 Menit.....	39
6. Hasil Analisis Post-Hoc LSD Mortalitas Larva dalam 24 Jam.....	40
7. Pengaruh Paparan 24 Jam Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam ( <i>Piper nigrum</i> ) terhadap Perubahan Morfologi <i>Midgut</i> Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	43

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang dan Masalah

Nyamuk merupakan vektor dari banyak penyakit menular yang disebabkan oleh sejumlah besar patogen dan parasit. Di antara spesies nyamuk vektor, nyamuk dari genus *Aedes*, terutama *Aedes aegypti* adalah vektor penyakit menular yang sangat diwaspadai. Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor pada berbagai penyakit seperti demam berdarah dengue (DBD), demam chikungunya, dan demam zika. Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki penyebaran global yang luas di seluruh dunia. Umumnya *Aedes aegypti* hidup dan berkembang biak di daerah tropis dan subtropis, terutama di daerah perkotaan dan semi perkotaan menyebabkan penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) (Ryan *et al.*, 2019).

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus *Dengue* yang ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* betina (Kemenkes, 2022).

Penyebaran DBD telah menjadi penyakit endemik di lebih dari 100 negara beriklim tropis dan subtropis seperti Afrika, Amerika, Pasifik Barat, dan Asia Tenggara. Kasus DBD paling banyak ditemukan di Asia. Asia menyumbang sebanyak 67 juta kasus infeksi atau mencakup 70% total kasus DBD global (Bhatt *et al.*, 2013). Asia Tenggara menjadi wilayah yang paling rentan mengalami penyebaran penyakit DBD.

Kasus DBD pertama kali dilaporkan terjadi di Indonesia pada 1968 (Maula *et al.*, 2018). Selama 50 tahun terakhir angka kejadian DBD di

Indonesia menunjukkan siklus memuncak kira-kira setiap 6-8 tahun. Pulau Jawa menyumbang rata-rata jumlah kasus DBD tertinggi setiap tahunnya. Dalam beberapa tahun terakhir, Bali dan Kalimantan memiliki kejadian DBD tertinggi sementara Papua, wilayah paling timur kepulauan Indonesia, memiliki kejadian DBD terendah (Harapan *et al.*, 2019). Pada 2021, dilaporkan terjadi 73.518 kasus DBD dengan jumlah kematian sebanyak 705 kasus (Kemenkes, 2022).

Berbagai upaya terus dilakukan untuk mengurangi jumlah kasus penyakit DBD. Pengobatan DBD melalui vaksin untuk anak-anak sudah mulai dikembangkan di Amerika Serikat. Kendati demikian efektivitas serta efek proteksinya masih dalam tahap riset dan perkembangan (CDCP, 2022). Hingga saat ini upaya penanggulangan DBD utamanya masih sangat bergantung pada pengendalian vektornya (Sudarmaja *et al.*, 2022). Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* secara efektif dilakukan dengan cara memutus siklus hidup vektor, salah satunya melalui penggunaan larvasida.

Umumnya larvasida sintetik seperti bubuk temephos (abate) digunakan untuk membunuh larva nyamuk di tempat perindukannya di bak mandi maupun genangan air jernih. Namun penggunaan larvasida sintetik dalam jangka panjang dapat menyebabkan efek resistensi. Selain itu resiko dalam dosis tinggi bersifat racun bagi manusia dan menimbulkan pencemaran lingkungan (Solihat dkk., 2021). Oleh karenanya diperlukan alternatif larvasida alami yang efektif dan lebih aman.

Biolarvasida atau larvasida hayati umumnya terbuat dari bahan dasar bioaktif pada metabolit sekunder tumbuhan yang dapat berperan sebagai pengendali vektor karena bersifat toksik terhadap serangga. Kandungan metabolit sekunder tanaman seperti steroid, alkaloid, fenolik, terpenoid, dan minyak atsiri telah terbukti memiliki aktivitas insektisida, penolak nyamuk, dan adultisida pengendali nyamuk (Senthil-Nathan, 2020). Biolarvasida tidak menimbulkan pencemaran lingkungan karena mengandung bahan yang mudah terurai oleh alam serta memiliki toksisitas yang rendah terhadap serangga non-target (Silvério *et al.*, 2020).

Salah satu tanaman yang telah diakui selama ribuan tahun sebagai tanaman yang memiliki banyak manfaat adalah lada hitam (*Piper nigrum*) (Tamokou *et al.*, 2017). Tanaman lada hitam memiliki kandungan fitokimia potensial yang bermanfaat secara farmakologis. Pemanfaatan tanaman lada hitam (*Piper nigrum*) dapat dilakukan mulai dari akar, daun, batang, dan buahnya. Adapun kandungan fitokimia pada buah lada hitam (*Piper nigrum*) diduga memiliki aktivitas insektisida yang berpengaruh terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* sehingga berpotensi digunakan sebagai biolarvasida.

*Midgut* (usus tengah) adalah bagian tubuh yang sangat mewakili interkoneksi antara larva dan lingkungannya. Memahami histologi dan fisiologi *midgut* sangat penting untuk memahami mekanisme kerja dan efektivitas larvasida dalam kontrol serangga (Lemos *et al.*, 2018). Senyawa bioaktif tanaman bersifat racun dengan mengganggu sistem pencernaan dan mengakibatkan kerusakan bagian *midgut*. Senyawa tersebut dapat masuk ke saluran pencernaan dan mengkorosi lapisan mukosa usus. Bagian *midgut* (usus tengah) larva nyamuk merupakan tempat utama proses pencernaan yang menjadi salah satu organ target larvasida (Susilowati & Sari, 2022).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian “ Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*) terhadap Mortalitas dan Perubahan Morfologi *Midgut* Larva *Aedes aegypti*” sebagai upaya pencegahan DBD melalui alternatif biolarvasida yang efektif dan aman bagi manusia.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui efektivitas ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*)

terhadap perubahan morfologi *midgut* larva *Aedes aegypti* setelah paparan 24 jam.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Sebagai informasi tambahan terhadap manfaat buah lada hitam (*Piper nigrum*) terutama dalam pengendalian *Aedes aegypti*.
2. Meningkatkan penggunaan buah lada hitam (*Piper nigrum*) sebagai biolarvasida untuk menurunkan angka penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD).

### 1.4 Kerangka Pemikiran

Pemanfaatan ekstrak tanaman sebagai biolarvasida ditujukan untuk mengurangi ketergantungan pada larvasida sintetik. Kandungan senyawa fitkomia pada ekstrak tanaman dipercaya memiliki sifat larvasida yang toksik terhadap *Aedes aegypti*. Kandungan fitkomia dan kegunaan tanaman lada hitam (*Piper nigrum*) tidak terbatas pada akar, batang, dan daun saja. Adapun buah lada hitam (*Piper nigrum*) juga dipercaya memiliki aktivitas larvasida terhadap *Aedes aegypti*.

*Midgut* larva merupakan organ pencernaan yang menjadi salah satu target biolarvasida. Kerusakan *midgut* larva dapat menjelaskan mekanisme dan efektivitas suatu biolarvasida. Diharapkan pada penelitian ini buah lada hitam memiliki aktivitas biolarvasida yang tinggi dibuktikan dengan uji kualitatif kandungan fitokimia ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) dan pengamatan jumlah mortalitas larva serta perhitungan efektivitas ekstrak melalui analisis *Post-hoc* LSD. Pengamatan kerusakan morfologi luar dan *midgut* larva *Aedes aegypti* dilakukan untuk mengetahui mekanisme kerja biolarvasida.

Penelitian ini dilakukan menggunakan ekstrak buah lada hitam



(*Piper nigrum*) dengan lima unit percobaan: 0% (kontrol); 0,25%; 0.50%; 0.75%; dan 1%. Tiap percobaan dilakukan empat kali pengulangan sehingga didapatkan 20 unit. Objek pengamatan adalah larva *Aedes aegypti* instar III. Uji dilakukan terhadap 25 larva per unit percobaan sehingga digunakan total 500 ekor larva. Mortalitas larva diamati selama 24 jam, dengan tabulasi data pada 30 menit, 60 menit, dan 24 jam. Data yang diperoleh dianalisis dengan *one way* ANOVA dan efektivitas aktivitas biolarvasida ekstrak diketahui melalui uji *Post hoc* LSD.

Pengamatan dilakukan terhadap badan luar larva dan morfologi *midgut* setelah paparan ekstrak selama 24 jam. Pembuatan preparat *midgut* dilakukan dengan metode blok parafin yang dipotong melintang menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6  $\mu\text{m}$  dan diwarnai *Hematoxylin-Eosin*. Preparat diamati bagian membran pertiropik, sel epitel dan membran basalis menggunakan mikroskop cahaya (Nikon, Jepang). Data observasi *midgut* larva ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

## 1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) efektif terhadap larva *Aedes aegypti*.
2. Ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum*) menyebabkan perubahan morfologi *midgut* larva *Aedes aegypti*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Aedes aegypti*

*Aedes aegypti* berasal dari Afrika. *Aedes aegypti* adalah spesies nyamuk liar yang berkembang biak di hutan. Pembukaan lahan untuk pemukiman mengakibatkan *Aedes aegypti* beradaptasi dengan lingkungan sekitar habitat manusia (peridomestik) dengan berkembang biak di wadah penyimpanan air di wilayah Afrika. Aktivitas perdagangan global pada abad ke-17 hingga ke-19 menyebabkan penyebaran spesies ini hingga ke Amerika dan Asia Tenggara (Ryan *et al.*, 2019). *Aedes aegypti* adalah vektor utama transmisi penyakit DBD di Indonesia. *Aedes aegypti* hidup dan berkembang biak di daerah beriklim tropis dan subtropis, terutama di daerah perkotaan dan semi perkotaan. *Aedes aegypti* memiliki ukuran tubuh yang kecil namun mudah dikenali dari morfologinya yang khas berupa tubuh berwarna hitam dengan belang putih (Boesri dkk., 2015).

#### 2.1.1 Taksonomi *Aedes aegypti*

Klasifikasi *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut:

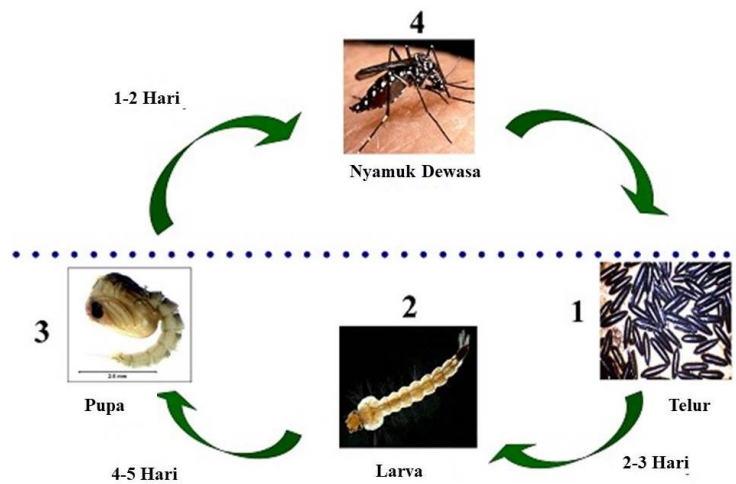
Kerajaan	:	Animalia
Filum	:	Arthropoda
Subfilum	:	Uniramia
Kelas	:	Insecta
Ordo	:	Diptera
Subordo	:	Nematocera

Famili	:	Culicidae
Subfamili	:	Culicinae
Genus	:	<i>Aedes</i>
Spesies	:	<i>Aedes aegypti</i>

(Borror dkk., 1996)

### 2.1.2 Siklus Hidup dan Morfologi *Aedes aegypti*

*Aedes aegypti* mengalami empat tahap perkembangan dan memiliki ciri morfologi yang khas. Perkembangan *Aedes aegypti* dibagi menjadi stadium telur – jentik – pupa – nyamuk dewasa. Perkembangan pada stadium telur, larva, dan pupa terjadi di air, sedangkan nyamuk dewasa berkembang dan beraktivitas di udara. Umumnya usia nyamuk berkisar selama 2 minggu, namun ada pula yang mencapai 2 – 3 bulan. Siklus hidup *Aedes aegypti* dapat dilihat pada gambar 1.

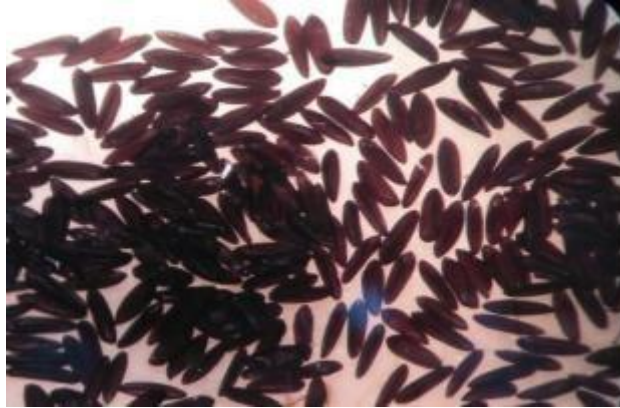


Gambar 1. Siklus hidup *Aedes aegypti* (Coon *et al.*, 2014)

#### A. Stadium Telur

Telur *Aedes aegypti* berbentuk elips, berwarna hitam dan berukuran 5 – 6,6 mm (Marlik, 2017). Saat telur dikeluarkan dari tubuh induk nyamuk (oviposisi), telur berwarna putih dan lunak. Lama-kelamaan telur mengalami pigmentasi dan berubah menjadi

hitam dan bertekstur keras (Susanti & Suharyo, 2017). Telur *Aedes aegypti* berbentuk oval meruncing, bersimetri bilateral, memiliki permukaan yang mengkilap, dan permukaan sisi rata serta sedikit cembung (Mundim-Pombo *et al*, 2021).



Gambar 2. Telur nyamuk *Aedes aegypti* (Marlik, 2017)

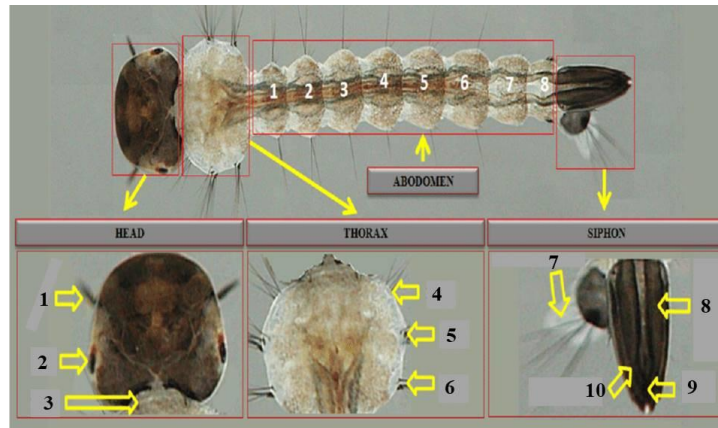
### **B. Stadium Larva**

Telur nyamuk akan menetas menjadi larva setelah 1-3 hari. Larva nyamuk atau biasa disebut jentik berukuran 0,51 cm, tidak berlungan dan memiliki abdomen lebih lebar dari kepala. Kepalanya berkembang baik dilengkapi dengan sepasang antena dan mata majemuk. Jentik selalu bergerak aktif di air. Sese kali jentik bergerak ke permukaan air untuk bernapas dengan mengarahkan corong udara (sifon) ke permukaan air. Pada waktu istirahat, posisi jentik tegak lurus dengan permukaan air. Jentik mengalami 4 stadium perkembangan larva (instar) sebelum berubah menjadi pupa. Perkiraan waktu perubahan ini sekitar 6-8 hari (Marlik, 2017). Menurut Theodora (2018) instar nyamuk memiliki ciri sebagai berikut.

- 1) Instar I, memiliki tubuh dan sifon yang masih transparan, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas, berukuran paling kecil dengan panjang 1 – 2 cm, serta membutuhkan waktu perkembangan selama 1 hari.

- 2) Instar II, ditandai dengan perkembangan sifon berwarna kecoklatan namun duri-duri dada belum nampak jelas, memiliki ukuran tubuh sekitar 2,5 – 3,9 cm, serta membutuhkan waktu perkembangan selama 1-2 hari.
- 3) Instar III, memiliki duri-duri dada yang jelas dan sifon berwarna coklat, ukuran tubuh berkembang mencapai 4-5 cm. Instar III nyamuk memiliki ukuran tubuh yang lebih besar daripada instar I dan II sehingga mudah diamati. Larva instar III memiliki struktur anatomi yang lebih jelas dan ketahanan fisik terhadap pengaruh eksternal. Instar III membutuhkan waktu 2 hari untuk berkembang menjadi instar IV (Nurhaifah & Sukesi, 2015).
- 1) Instar IV, merupakan tahap akhir perkembangan larva ditandai dengan struktur anatomi bagian tubuh yang lengkap terdiri atas kepala (*cephal*), dada (*thorax*), dan perut (*abdomen*). Bagian kepala dilengkapi sepasang mata dan antena yang gelap. Ukuran larva mencapai 5-7 cm. Instar IV akan berkembang menjadi pupa dalam waktu 2-3 hari.

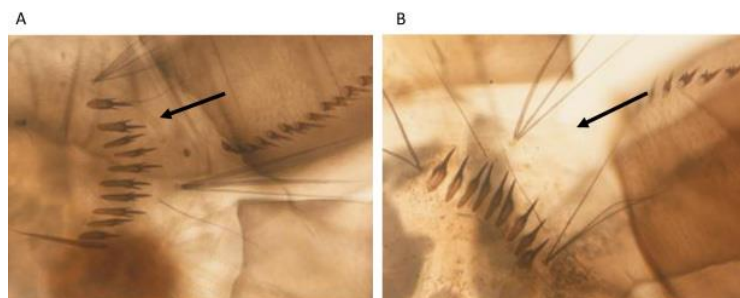
Karakteristik morfologi larva *Aedes aegypti* memiliki struktur kepala, antena, toraks, abdomen, sifon, dan papila anal. Abdomen larva terbagi atas 8 segmen. Segmen kedelapan abdomen larva memiliki deretan duri sisir dan saluran pernapasan (sifon). Pada bagian terminal abdomen larva terdapat papila anus yang berfungsi untuk ekskresi. Larva nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai ciri khas sifon yang pendek, besar dan hitam (Supriyono dkk., 2023).



Gambar 3. Morfologi Larva *Aedes aegypti* (Rao, 2020)

Keterangan: 1. Antena, 2. Mata, 3. Leher, 4. Protoraks, 5. Mesotoraks, 6. Metatoraks, 7. Papila anal, 8. Sifon, 9. Sisir ekor, 10. Duri pekten.

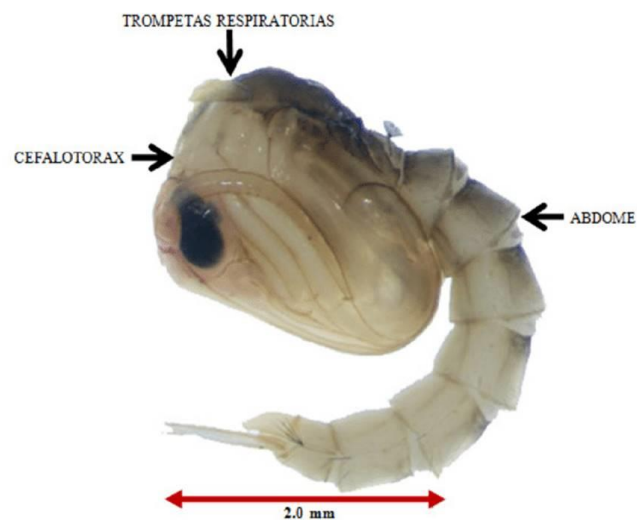
Salah satu spesies *Aedes* spp. yang erat kaitannya dengan *Aedes aegypti* adalah *Aedes albopictus*. *Aedes albopictus* merupakan vektor sekunder penyakit DBD. Berbeda dengan *Aedes aegypti* yang dijumpai di perkotaan, *Aedes albopictus* sering dijumpai mencari makan dan bertelur di kebun atau lahan kosong dengan vegetasi yang cukup rapat (Fatmawati dkk., 2014). Cara membedakan *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* pada stadium larva adalah dengan melihat gigi sisir yang berada pada segmen kedelapan abdomen. Identifikasi morfologi oleh Teo *et al.* (2017), mengungkapkan bahwa larva *Aedes aegypti* memiliki gigi sisir berbentuk seperti mahkota dan memiliki duri lateral, sedangkan *Aedes albopictus* memiliki gigi sisir berbentuk seperti trisula dan tidak berduri lateral.



Gambar 4. Identifikasi gigi sisir (*comb scales*) larva *Aedes* spp.  
A) *Aedes aegypti*; B) *Aedes albopictus*

### C. Stadium Pupa

Pupa atau kepompong merupakan periode puasa yang ditandai dengan struktur kepala dan toraks menyatu menjadi bentuk seperti koma. Pada periode ini pupa tetap bernafas namun tidak makan. Tubuh pupa terdiri dari sepalotoraks, abdomen, sifon, dan ekor. Suhu optimum untuk perkembangan pupa adalah sekitar  $27^{\circ}$ - $30^{\circ}$  C. Dalam waktu 1-2 hari kulit kepompong akan pecah dan pupa siap berkembang menjadi nyamuk dewasa (Marlik, 2017).

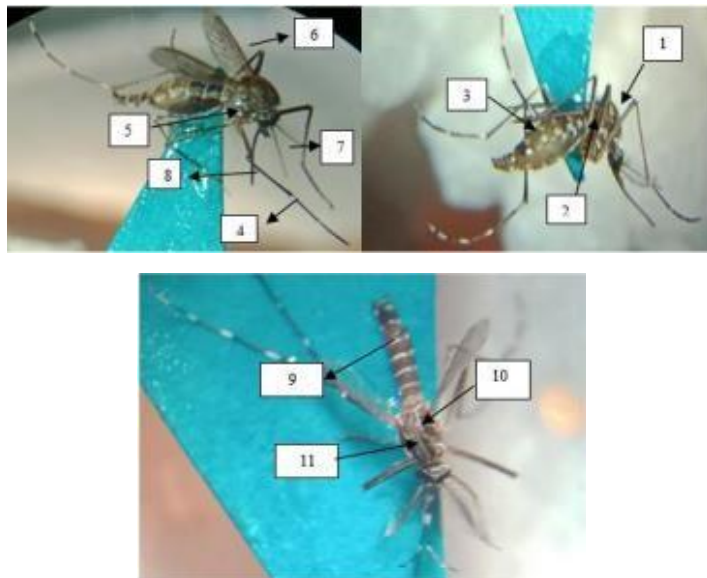


Gambar 5. Morfologi Pupa *Aedes aegypti* (Rao, 2020)

### D. Stadium Nyamuk Dewasa

Nyamuk dewasa memiliki tubuh berwarna coklat tua kehitaman. Tubuh nyamuk terdiri atas tiga bagian: kepala, dada, dan perut. Morfologi nyamuk *Aedes aegypti* ditandai dengan badan berwarna dasar hitam disertai corak putih keperakan pada dada, abdomen, kaki, dan sayap. Bercak putih pada tungkai kaki dan dua garis keperakan melengkung berbentuk siku berhadapan (*lyre-shaped*) di punggungnya merupakan ciri utama nyamuk *Aedes aegypti*. Umumnya ukuran nyamuk jantan relatif lebih kecil dari nyamuk betina, yaitu sekitar 4-5 mm dan 4-6 mm. Nyamuk *Aedes* betina mempunyai abdomen yang berujung lancip dan

mempunyai *cerci* yang panjang (Theodora, 2018). Antena nyamuk *Aedes* jantan dan betina memiliki 13 segmen (*flagella*), dengan panjang 1-1,5 mm dengan rambut-rambut kecil (*funiculus*) pada setiap segmen. Antena nyamuk jantan disebut *plumose* berbulu lebih lebat, sedangkan antena nyamuk betina yang disebut *pilose* berbulu jarang (Supriyono dkk., 2023).



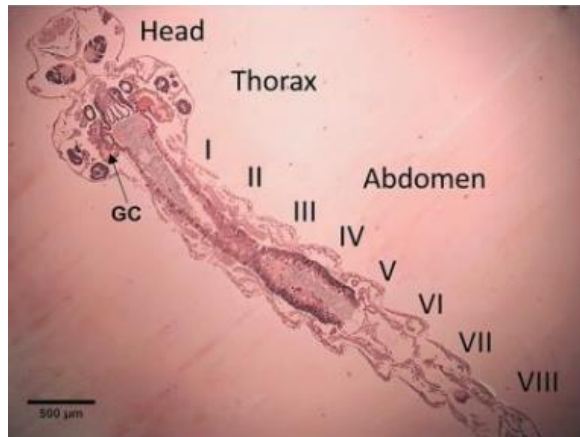
Gambar 6. Nyamuk *Aedes aegypti* (Berri dkk., 2020).

Keterangan: 1. Kepala, 2. Thoraks, 3. Abdomen, 4. Kaki, 5. Mesepimeron, 6. Sayap, 7. Antena, 8. Probosis, 9. *Lyre form*, 10. Garis melengkung, 11. Garis lurus.

### 2.1.3 Saluran Pencernaan *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki susunan tubuh berupa kepala, toraks, dan abdomen. Segmentasi tubuh ini sudah nampak sejak stadium larva berupa adanya kepala, toraks, dan delapan segmen abdomen (gambar 7). Susunan organ pencernaan nyamuk sudah jelas sejak stadium larva. Sehingga pengamatan terhadap saluran pencernaan nyamuk *Aedes aegypti* dapat dilakukan melalui pengamatan jaringan saluran pencernaan larva. Adapun sistem pencernaan larva terbagi atas tiga bagian berupa *foregut*, *midgut*, dan *hindgut*.



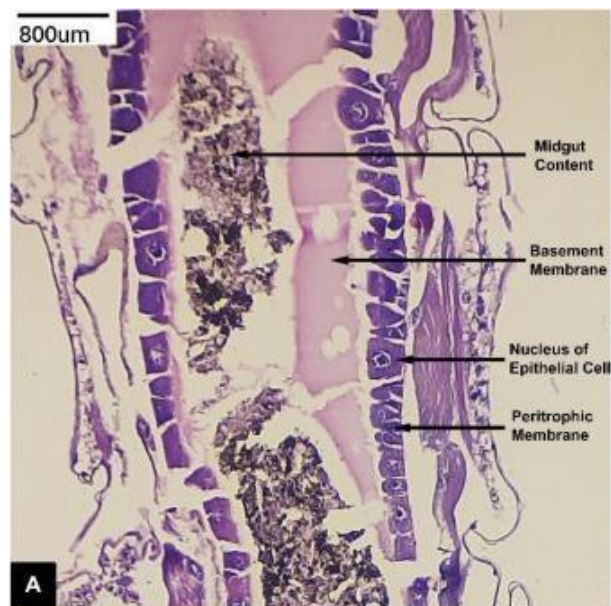


Gambar 7. Segmen tubuh larva *Aedes aegypti* (Lemos *et al.*, 2018).

*Foregut* (usus depan) atau stomodeum merupakan bagian usus yang paling dekat dengan mulut. Pada usus depan, struktur yang paling khas adalah proventrikulus, yang muncul sebagai invaginasi esofagus yang dikelilingi oleh lapisan epitel kolumnar, mirip dengan sel-sel usus tengah. Sel-sel ini bertanggung jawab atas sekresi membran peritrofik. Selain itu sekresi enzim dan zat kimiawi oleh usus depan berperan dalam pertahanan mekanik terhadap patogen yang mungkin yang tertelan larva (Lemos *et al.*, 2018).

*Midgut* (usus tengah) atau mesenteron terbentang dari segmen I-V abdomen yang mencirikan karakter morfologis yang khas. Area *midgut* *Aedes aegypti* berupa kompartemen pencernaan yang berperan dalam absorpsi nutrisi dan melumat infeksi patogen pencernaan. *Midgut* juga berperan sebagai organ endokrin terbesar yang mensekresikan enzim-enzim pencernaan. Area *midgut* larva *Aedes aegypti* memiliki lapisan epitel kolumnar selapis yang terdiri atas membran basal dan lapisan otot. Sel epitel berbentuk pipih dan memanjang, beberapa berbentuk gada, juga ditemukan sel berbentuk piramid. Sel-sel tersebut memiliki nukleus berbentuk bulat dan besar yang terletak di bagian basal dan apikal lapisan epitel. Permukaan

basal sel-sel epitel tidak rata dan memiliki banyak lekukan membran plasma membentuk labirin basal yang memiliki banyak mitokondria (Lemos *et al.*, 2018). Pengamatan jaringan dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin (gambar 8) menunjukkan area sekitar *midgut* larva *Aedes aegypti* tersusun atas membran basal, sel epitel, membran peritropik, dan sel-sel regeneratif epitel (Jeno & Nakkeeran, 2022).



Gambar 8. Sayatan area midgut larva *Aedes aegypti* diwarnai Hematoksilin-Eosin (Jeno & Nakkeeran, 2022)

*Hindgut* atau proktodeum terletak setelah segmen kelima abdomen. Daerah transisi antara *midgut* dan *hindgut* ditandai dengan adanya kontras perubahan pada jaringan epitel. Lapisan epitel *hindgut* memiliki sel-sel berbentuk epitel kolumnar dan kubik yang tidak beraturan. Pada *hindgut* dapat ditemukan pilorus, irisan tubulus malpighi, serta bagian anterior ileum (Lemos, *et al.*, 2018).

### 2.1.5 Pengendalian *Aedes aegypti*

Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* merupakan langkah penting dalam memutus rantai penularan demam berdarah dengue (DBD). Pengendalian nyamuk bertujuan untuk meminimalkan jumlah populasi, atau menguranginya ke tingkat yang dapat ditoleransi atau tidak mengancam (Hamid dkk., 2022). Pengendalian nyamuk dapat dilakukan mulai dari stadium telur, larva dan dewasa. Pengendalian nyamuk dapat dilakukan melalui tiga cara, yakni secara mekanis, kimiawi, dan biologis.

Pengendalian nyamuk secara mekanis dilakukan dengan mengurangi populasi nyamuk melalui pengelolaan lingkungan dan sanitasi yang baik. Perubahan lingkungan dilakukan agar nyamuk tidak dapat berkembang biak, istirahat, ataupun menggigit. Misalnya dengan program pembersihan sarang nyamuk untuk pengendalian vektor DBD yang terkenal dengan sebutan 3M yaitu menguras tempat penampungan air (TPA), menutup TPA dan menimbun barang-barang yang dapat menampung air hujan sebagai tempat berkembang biak nyamuk *Aedes aegypti*. Pengasapan (*fogging*) merupakan salah satu metode pengendalian secara mekanik. Pengasapan menggunakan *thermal fogging* menunjukkan bahwa *fogging* secara signifikan dapat menurunkan jumlah populasi *Aedes aegypti* selama 20 hari (Ponlawat *et al.*, 2017).

Alternatif lain yang dapat dilakukan adalah pengendalian secara biologi melalui pemanfaatan agen hayati seperti bakteri *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus sphaericus*.

*Bacillus thuringiensis* dapat memproduksi *insecticidal crystal protein* (ICP) atau delta-endotoksin di dalam sel spora ketika mengalami sporulasi. ICP menyebabkan aktivitas proteolisis pada usus serangga sehingga terbentuk pori dalam sel membran pencernaannya menyebabkan terganggunya keseimbangan

osmotik sel menyebabkan serangga akan berhenti makan dan mati (Gurung & Manivannan, 2020).

Pengendalian nyamuk secara kimiawi masih menjadi pilihan utama dalam mengendalikan populasi nyamuk *Aedes aegypti*.

Cara ini dilakukan dengan mengaplikasikan insektisida.

Insektisida yang umumnya dipakai adalah abate yang mengandung organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid (Sumekar & Nurmaulina, 2016). Namun, penggunaan insektisida secara terus menerus dapat menyebabkan resistensi pada serangga sasaran. Oleh karenanya saat ini dikembangkan alternatif bioinsektisida dari bahan dasar tanaman yang aman dan ramah lingkungan. Biolarvasida mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat bioaktif yaitu flavonoid, terpenoid, saponin, dan steroid. Senyawa metabolit ini bersifat sebagai racun terhadap serangga dan larva sehingga dapat digunakan sebagai larvasida.

## 2.2 Lada Hitam (*Piper nigrum*)

Lada hitam (*Piper nigrum*) dikenal sebagai “Raja Rempah” merupakan salah satu rempah yang paling tua di dunia. Lada hitam (*Piper nigrum*) adalah anggota famili Piperaceae. Keluarga Piperaceae memiliki 3600 spesies dan 13 genus. Spesies yang paling terkenal adalah *Piper nigrum*, yang banyak digunakan sebagai bumbu, termasuk merica dan lada hitam (Tamokou *et al.*, 2017).

Tanaman Lada hitam merupakan tanaman berbunga yang memiliki banyak manfaat. Buah lada hitam dapat dikeringkan menjadi biji merica dan digunakan sebagai bumbu dan rempah. Lada hitam adalah jenis tanaman tahunan yang tumbuh merambat di daerah tropis. Lada hitam berasal dari Malabar, daerah tropis di Pantai Barat India Selatan (saat ini disebut sebagai Kerala). Saat ini lada hitam tersebar dan dibudidayakan di banyak

daerah tropis seperti Vietnam, Indonesia, Brazil, dan Sri Lanka (Goswami & Malvia, 2020).

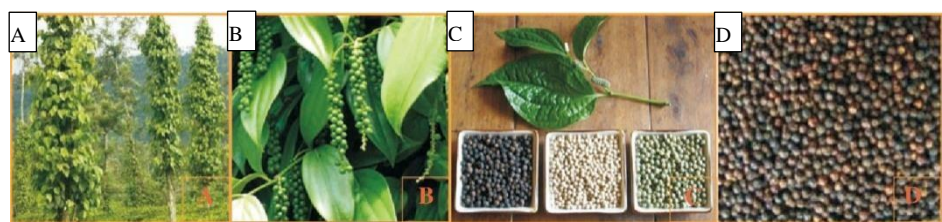
Indonesia adalah salah satu produsen lada terbesar di dunia. Lada pertama kali dibawa ke Indonesia oleh penjajah Portugis pada abad ke -16 dan menjadi rempah-rempah prioritas hingga saat ini. Lada varietas lokal mulai dikembangkan pada zaman kolonialisme Belanda oleh petani lokal di Jawa Barat. Produksi lada di Indonesia utamanya terdapat di Provinsi Bangka Belitung dan Lampung dengan estimasi panen delapan puluh dua ribu ton pada 2017 (Bermawie *et al.*, 2019).

### **2.2.1 Morfologi Lada Hitam (*Piper nigrum*)**

Lada hitam secara morfologi merupakan jenis tumbuhan memanjat dengan batang berkayu. Tanaman lada hitam memiliki urat daun *campylodromous*, ujung daun runcing, warna daun hijau tua, warna batang muda hijau tua, warna batang masak hijau kecoklatan, warna buah muda hijau tua, sifat berbunga musiman, bentuk buah bulat, dan tipe tumbuhan memanjat. Varietas lada hitam di Indonesia sebagian besar memiliki bentuk lamina daun bulat telur, bentuk pangkal daun bulat, dan tipe tepi daun genap (Bermawie *et al.*, 2019).

Lada hitam adalah tanaman tahunan dengan tipe batang merambat ke atas, batang halus dan percabangan melingkar, berakar tunggang namun mirip serabut, dan berwarna keabu-abuan. Daun lada hitam memiliki panjang 4 –6,5 inci dengan lebar 1,5 –2 inci, berbentuk bulat telur atau lonjong, memiliki ujung runcing dan permukaan yang sangat halus, serta memiliki bunga yang tersusun berkelompok pada batang tegak (Prayoga dkk., 2020). Lada akan menghasilkan buah setelah 3-4 tahun masa tanam. Buah lada berukuran 5-6 mm, wangi harum, buah berbentuk beri, berbiji keras dan berkulit buah yang lunak. Lada ada yang berwarna putih, hijau, dan hitam.

Perbedaan warna buah lada ini mencirikan perbedaan masa panen buah pada fase yang berbeda. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang tua berwarna kuning. Buah yang sudah masak berwarna merah, berlendir dan berasa manis. Sesudah dikeringkan lada berwarna hitam. Lada hitam memiliki rasa yang lebih kuat dan pedas daripada lada putih, sedangkan lada hijau dicirikan oleh aromanya yang lembut (Goswami & Malvia, 2020).



Gambar 9. Tanaman Lada (*Piper nigrum*) (Ahmad *et al.*, 2012)  
Keterangan: A. Tumbuhan lada; B. Daun dan buah majemuk lada; C. Buah lada hitam, putih, dan hijau;  
D. Lada yang sudah diproses.

### 2.2.2 Taksonomi Lada Hitam (*Piper nigrum*)

Klasifikasi tanaman lada hitam (*Piper nigrum*) menurut Tjitrosoepomo (1988), adalah sebagai berikut.

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Order	:	Piperales
Family	:	Piperaceae
Genus	:	<i>Piper</i>
Species	:	<i>Piper nigrum</i> L.

### 2.2.3 Kandungan Biokimia Lada Hitam (*Piper nigrum*)

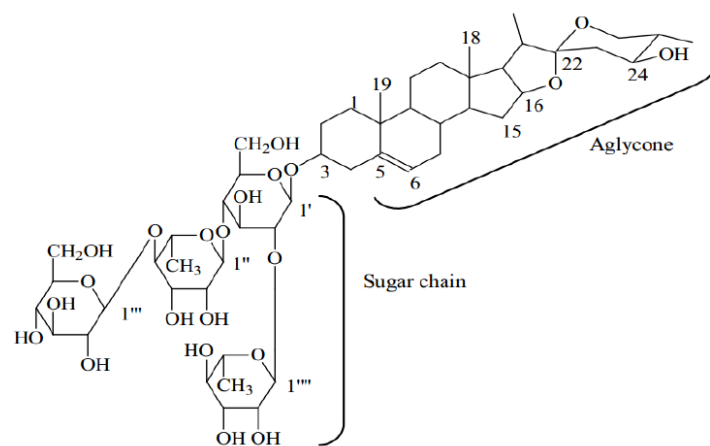
Lada hitam (*Piper nigrum*) memiliki banyak kandungan fitokimia yang bermanfaat farmakologis. Penelitian tentang kandungan fitokimia lada mengungkapkan potensinya sebagai antioksidan, antikanker, antimikroba, anti-inflamasi, melancarkan pencernaan, penurun kolesterol, antidiare, antidepresan, dan antidiabetes (Goswami & Malvia, 2020). Lada hitam mengandung bahan aktif alkaloid, fenol, tanin, kumarin, saponin, flavonoid, glikosida, dan minyak atsiri. Kandungan minyak atsiri lada hitam mencapai 3,5% dan mengandung bahan seperti *sabinene*, *pinene*, *phellandrene*, *linalool* dan *limonene*. Lada hitam juga mengandung alkaloid khas piperin yang memberikan rasa pedas (Tamokou *et al.*, 2017). Senyawa metabolit sekunder seperti steroid, alkaloid, fenolik, terpenoid, dan minyak atsiri telah terbukti memiliki aktivitas insektisida, penolak nyamuk, dan adultisida pengendali nyamuk (Senthil-Nathan, 2020).

Penelitian oleh Solihat dkk. (2021), menyatakan beberapa kandungan pada lada hitam (*Piper nigrum*) berpotensi digunakan sebagai larvasida, diantaranya:

#### 1. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang tersusun atas rantai glikon larut air dan struktur aglikon larut dalam lemak (Gambar 8). Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan sapogenin yang tersusun atas steroid atau triterpenoid (Moghimpour & Handali, 2015). Sifat kimia semi polar yang dimiliki saponin membuat senyawa ini mudah larut dalam air dan lemak. Saponin membentuk busa koloidal dalam air dan dapat menurunkan tegangan permukaan. Saponin memiliki sifat amfipatik yang memudahkannya menembus membran sel organisme. Struktur saponin

ditentukan oleh jumlah kerangka gula dan komposisi cincin steroid. Jumlah kandungan saponin pada tumbuhan dipengaruhi oleh usia pertumbuhan. Umumnya tumbuhan muda mengandung lebih banyak senyawa saponin daripada tumbuhan tua (Putri dkk., 2023). Kandungan saponin bersifat toksik terhadap makhluk hidup pada konsentrasi yang tinggi. Selain itu, saponin dapat menyebabkan penurunan nafsu makan serangga (*antifeedant*) karena rasanya yang pahit (Mugford & Osbourn, 2012).

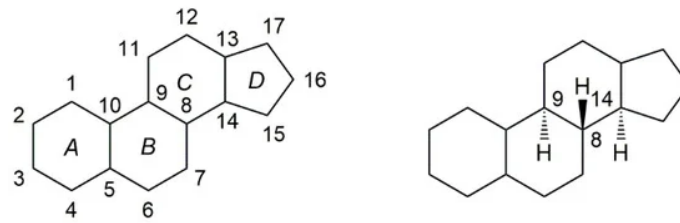


Gambar 10. Struktur kimia saponin  
(Moghimipour & Handali, 2015).

## 2. Steroid

Steroid adalah senyawa organik yang tersusun atas tujuh belas kerangka karbon yang berikatan dengan tiga lingkaran enam cincin sikloheksana perhidro-fenantren (cincin A, B, C) dan satu lingkaran lima cincin siklopentana (cincin D) (Gambar 9) membentuk struktur 1,2 siklopentenoperhidrofenantren (Salempa & Muharram, 2016). Struktur biokimia ini memungkinkan steroid menembus membran sel dan berikatan dengan inti dan reseptor membran (Gomes *et al.*, 2022).

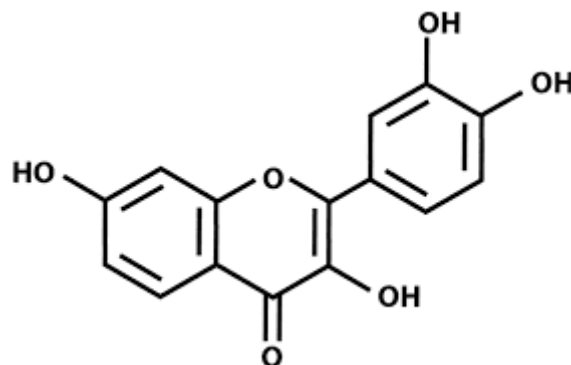




Gambar 11. Struktur kimia steroid (Gomes *et al.*, 2022).

### 3. Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa fitokimia turunan asam mevalonik yang tersusun dari isoprena 5-karbon dan polimer isoprena yang disebut terpen (Gambar 10). Terpenoid memiliki struktur siklik yang bisa berikatan dengan alkohol. Terpenoid didefinisikan sebagai modifikasi senyawa terpen karena mengandung hidrokarbon yang teroksidasi (Yang *et al.*, 2020). Terpenoid bersifat toksik terhadap serangga terutama dalam memfasilitasi pergerakan senyawa toksin lain melalui pembentukan kompleks non-polar (Yulianti dkk., 2017).

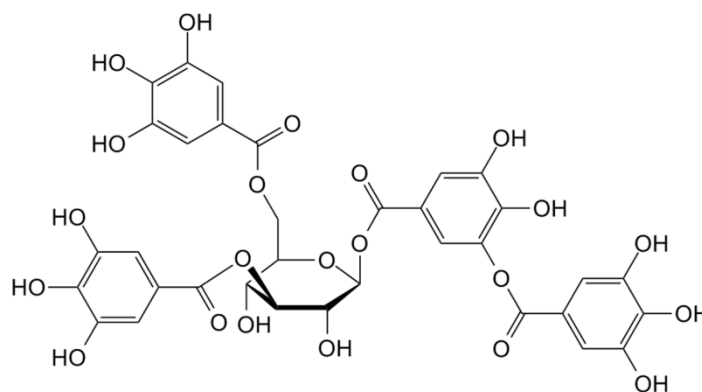


Gambar 12. Struktur kimia terpenoid (Yang *et al.*, 2020).

### 4. Tanin

Senyawa tannin tersusun atas cincin benzena (C<sub>6</sub>) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (Gambar 11). Toksisitas senyawa tanin terhadap makhluk hidup bergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan faktor lainnya. Tanin

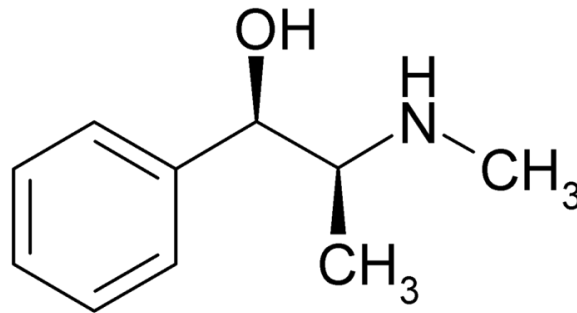
dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Adapun penambahan tanin berkonsentrasi tinggi ke dalam makanan hewan monogastrik diyakini menghambat penyerapan nutrisi dan proses pencernaan (Tong *et al.*, 2022). Selain itu, tanin dapat berikatan pada protein di kulit larva dan menyebabkan kegagalan molting mengakibatkan larva mati sebelum dapat berkembang menjadi pupa (Nurhaifah & Sukesi, 2015).



Gambar 13. Struktur kimia tanin (Noer dkk., 2023).

## 5. Alkaloid

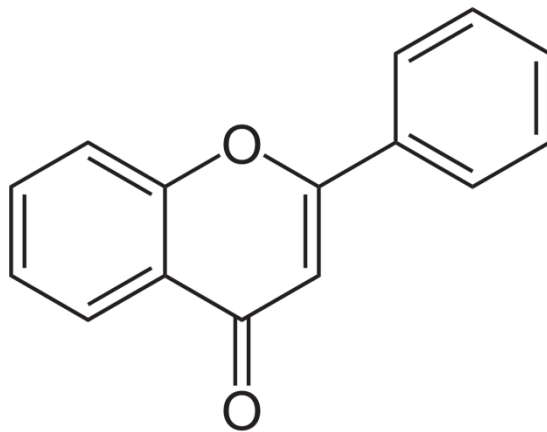
Alkaloid adalah senyawa fitokimia turunan asam amino yang mengandung satu atau lebih cincin heterosiklik yang mengandung nitrogen (Gambar 12). Alkaloid sangat reaktif terutama dalam reaksi biokimia. Alkaloid berkonjugasi dengan asam dan membentuk garam yang larut dalam air, dan banyak di antaranya berbentuk kristal. Hampir semua alkaloid memiliki rasa pahit dan kuat (Dey *et al.*, 2020). Sifat dasar alkaloid adalah larut dalam air dalam kondisi asam dan larut dalam lemak dalam kondisi saraf dan basa. Hal ini sangat penting untuk pelarutan dalam bentuk terprotonasi dan permeasi membran dalam bentuk terdeprotonasi (Heinrich *et al.*, 2021).



Gambar 14. Struktur kimia alkaloid (*Dey et al., 2020*).

## 6. Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon dengan dua cincin benzena (C<sub>6</sub>) terikat oleh rantai propana (C<sub>3</sub>) (Gambar 13). Pada tumbuhan flavonoid dapat ditemukan dalam bentuk bebas (aglikon) atau terikat dengan gula. Bentuk flavonoid yang paling umum adalah flavonoid terglukosilasi, diantaranya antosianidin terglukosilasi dikenal sebagai golongan penting dari flavonoid. Antosianidin bersifat peka terhadap cahaya (*Dias et al., 2021*). Flavonoid bertindak sebagai inhibitor protein AeNobo pada *Aedes aegypti*. Flavonoid mencegah sintesis hormon steroid (*ecdysteroid*) yang diregulasi oleh protein AeNobo sehingga menyebabkan kegagalan molting (*Inaba et al., 2022*). Flavonoid juga berperan sebagai inhibitor enzim yang mengakibatkan kematian pada serangga (*Cahyati dkk., 2017*).



Gambar 15. Struktur kimia flavonoid (Noer dkk., 2023).

### 2.3 Biolarvasida

Biolarvasida adalah senyawa yang bahan-bahannya didapat dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) dan memiliki aktivitas larvasida terhadap serangga (Kumara dkk., 2021). Beberapa tanaman yang dapat digunakan sebagai biolarvasida pada jentik nyamuk adalah daun sirsak (Kolo dkk., 2018), daun pandan wangi (Putri & Yushananta, 2022), daun lada (Solihat dkk., 2021), daun jeruk (Rahmayunita dkk., 2022), serai wangi (Salaki dkk., 2021), dll. Tanaman ini mengandung bahan bioaktif berupa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid yang toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Biolarvasida dapat digunakan sebagai alternatif larvasida sintetik karena memiliki beberapa keunggulan, diantaranya toksisitasnya spesifik pada serangga tertentu serta tidak menimbulkan efek racun pada mamalia. Selain itu biolarvasida tidak meninggalkan residu kimiawi dan mudah terurai di alam sehingga ramah lingkungan (Solihat dkk., 2021).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juli 2023, di Laboratorium Zoologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) dilakukan di Laboratorium Botani, FMIPA, Universitas Lampung. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Biokimia, FMIPA Universitas Lampung . Pembuatan preparat jaringan *midgut* *Aedes aegypti* dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung. Adapun pengamatan preparat jaringan *midgut* dilakukan di Laboratorium Zoologi, FMIPA, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Ekstraksi etanol buah lada hitam menggunakan alat berupa blender, kertas saring, *rotary evaporator* sebagai alat untuk menguapkan solven etanol, batang pengaduk, timbangan, botol gelap sebagai wadah maserasi, erlenmeyer, corong, botol sebagai penampung ekstrak, pipet tetes, dan gelas ukur, nampan 30x15 cm dan gelas plastik sebagai wadah perlakuan, batang pengaduk, pipet tetes, pinset, kamera, jam tangan, dan tabel tabulasi data, mikrotom putar sebagai alat pemotong parafin, *cover glass*, kaca preparat, dan mikroskop cahaya.

### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan berupa buah lada hitam (*Piper nigrum*) yang didapat dari perkebunan di Ulubelu, Kabupaten Tanggamus, larutan etanol 96% sebagai pelarut ekstrak buah lada hitam, dan aquades sebagai pengencer ekstrak, telur *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan IPB, pelet ikan, aquades, entelan, label, formaldehid 10%, xilol, etanol bertingkat, blok parafin dan pewarna Hematoksilin-Eosin.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Objek penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III. Serta sebagai perlakuan digunakan ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) dalam empat konsentrasi uji. Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu K, P1 (0,25%), P2 (0,50%), P3 (0,75%), P4 (1%) serta pengulangan sebanyak 4 (empat) kali. Pengulangan tiap kelompok dihitung menggunakan rumus Federer (1997):

$$t(r-1) \geq 15$$

Keterangan: t (*treatment*): jumlah perlakuan

r (*replication*): jumlah ulangan

Diketahui: t = 5

$$t(r-1) \geq 15$$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diketahui jumlah pengulangan yang harus dilakukan sebanyak 4 kali untuk setiap kelompok kontrol dan eksperimen. Adapun denah susunan percobaan RAL penelitian ini digambarkan sebagai berikut.

KU1	PIU3	P3U2	P3U3	P2U2
P1U1	KU2	P4U3	P4U4	P4U1
P1U2	P4U2	KU3	PIU4	P2U1
P2U4	P3U1	P2U3	KU4	P3U4

Gambar 16. Rancangan Penelitian Acak Lengkap (RAL)

Menurut pedoman WHO (2005), jumlah larva yang digunakan pada tiap unit percobaan berjumlah 25 ekor. Adapun jumlah larva instar III *Aedes aegypti* yang dibutuhkan pada percobaan ini berjumlah 500 ekor.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Penyediaan dan Persiapan Larva *Aedes aegypti*

Larva yang digunakan berasal dari telur nyamuk *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat dalam bentuk sediaan kering. Penyediaan larva berasal dari telur yang ditetaskan di air pada nampan berukuran 30x15 cm yang diisi air selama 1-2 hari. Larva yang sudah menetas diberi makan pelet ikan yang dihaluskan dan dibiakkan di air selama 3-5 hari hingga melewati fase instar I sampai III. Ketika larva sudah sampai pada fase instar III, larva dipindahkan ke gelas plastik dan siap digunakan sebagai objek uji.

#### 3.4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*)

Buah lada yang digunakan adalah buah lada kering berwarna hitam berasal dari perkebunan lada di Ulubelu, Kabupaten Tanggamus.

Buah lada hitam dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia) sebanyak 500 gr. Simplisia lada kemudian dimasukkan ke dalam botol gelap dan dimaserasi dengan perbandingan simplisia:etanol 96% adalah 1:10, ditutup hingga rapat dan biarkan selama 24 jam. Ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan endapan dan filtrat. Endapan hasil maserasi dapat digunakan untuk remaserasi selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut etanol sehingga didapatkan ekstrak buah lada hitam dengan konsentrasi 100% (Hasrawati dkk., 2022).

### **3.4.3 Pengujian Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*)**

Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung. Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengonfirmasi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) berupa saponin, steroid, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang berfungsi sebagai biolarvasida. Prosedur uji fitokimia secara kualitatif dilakukan menurut metode Harborne (1987) dan Robinson (1995) sebagai berikut (tabel 1.)



Tabel 1. Prosedur uji fitokimia ekstrak etanol buah lada hitam  
(*Piper nigrum*)

No.	Jenis Uji	Perlakuan	Hasil Pengamatan Bila hasil (+)
1.	Saponin	0,5 mL sampel + 5 mL aquades, kemudian dikocok selama 30 detik	Terdapat busa (Harborne, 1987).
2.	Steroid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glasial + 0,5 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna sampel berubah menjadi biru atau ungu (Harborne, 1987).
3.	Terpenoid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glasial + 0,5 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna sampel berubah menjadi merah atau kuning (Harborne, 1987).
4.	Tanin	1 mL sampel + 3 tetes larutan FeCl <sub>3</sub> 10%	Warna larutan hitam kebiruan (Robinson, 1995).
5.	Alkaloid	0,5 mL sampel + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer (1 g KI dilarutkan dalam 20 mL aquades, ditambahkan 0,271 g HgCl <sub>2</sub> hingga larut)	Warna larutan putih kecoklatan (Robinson, 1995).
6.	Flavonoid	0,5 mL sampel + 0,5 g serbuk Mg + 5 mL HCl pekat (tetes demi setetes)	Warna larutan merah / kuning dan ditemukan busa (Harborne, 1987).

#### 3.4.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*) sebagai Larutan Uji

Larutan stok ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum*) konsentrasi 100% dibuat pengenceran ekstrak dengan konsentrasi 0,25 %; 0,50%; 0,75%;serta 1% yang disimpan dalam botol penampung.

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

Keterangan:

V1: volume larutan stok yang harus diencerkan (ml)

M1: konsentrasi ekstrak buah lada yang tersedia (%)

V2: volume ekstrak yang diinginkan (ml)

M2: konsentrasi ekstrak buah lada yang dibuat (%)

Tabel 2. Volume unit percobaan ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*)

M <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	M <sub>2</sub>	$V_1 = \frac{V_2 M_2}{M_1}$	Pengulangan V <sub>1</sub> x 4
100%	200 ml	0,25%	0,5 ml	2 ml
100%	200 ml	0,50%	1 ml	4 ml
100%	200 ml	0,75%	1,5 ml	6 ml
100%	200 ml	1%	2 ml	8 ml
<b>Total</b>				<b>20 ml</b>

### 3.4.5 Uji Efektivitas Ekstrak terhadap Mortalitas Larva

*Aedes aegypti*

Mula-mula ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum*) dibuat dalam berbagai konsentrasi: 0,25%; 0,50%; 0,75%; dan 1% dan larutan kontrol (0% ekstrak). Unit perlakuan ekstrak buah lada hitam yang digunakan terdiri dari 5 perlakuan dan 4 kali pengulangan sehingga didapatkan 20 unit percobaan.

Sebanyak 200 ml larutan ekstrak uji dimasukkan ke gelas plastik untuk tiap unit percobaan. Kemudian dimasukkan sebanyak 25 ekor larva instar III *Aedes aegypti* ke setiap gelas plastik dan direndam selama 24 jam. Mortalitas larva dicatat pada menit ke-30, 60, dan 1440 (Susilowati & Sari, 2022). Pengamatan efektivitas larvasida diukur dari jumlah mortalitas larva setelah 24 jam pada suhu kamar. Larva yang tenggelam ke dasar gelas plastik, tidak bergerak dan tidak merespon terhadap rangsangan ditandai sebagai larva yang mati.

Persentase mortalitas larva dihitung dengan rumus berikut (Abbot, 1925):

$$\text{Persentase mortalitas larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

### 3.4.6 Persiapan Pembuatan Preparat Jaringan *Midgut* Larva *Aedes aegypti* setelah diberi Perlakuan Uji.

Pemeriksaan histopatologi *midgut* larva menggunakan metode blok parafin (Ustiawaty & Zacharia, 2018) sebagai berikut.

#### 1. Proses Fiksasi

Mula-mula diambil larva *Aedes aegypti* pada tiap unit perlakuan dan dipisahkan dari larutan ekstrak uji. Larva yang sudah mati difiksasi dengan larutan formaldehid 10% pada suhu kamar selama 24 jam.

#### 2. Proses Dehidrasi dan *Clearing*

Larva didehidrasi menggunakan etanol bertingkat secara berturut-turut pada larutan etanol 70%, 80%, 96% dan etanol absolut. Larva dipindahkan ke dalam larutan xilol selama 24 jam untuk proses *clearing* alkohol. Larva dipindahkan ke dalam parafin cair selama 30 menit untuk proses infiltrasi.

#### 3. Proses *Embedding*

Larva dipindahkan ke dalam parafin bergantian (I, II, III) selama 1 jam. Kotak-kotak kertas (cetakan untuk *embedding*) disiapkan dan diisi dengan parafin cair, dan segera dipindahkan larva dalam kaset ke dalam parafin. Larva diletakkan dengan posisi tegak, bagian kepala berada di bawah dan ekor berada di atas. Parafin dibiarkan semalaman agar membeku dan membentuk parafin blok.

#### 4. Proses *Sectioning*

Blok parafin yang berisi larva *Aedes aegypti* dari 5 unit percobaan dipotong melintang dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6  $\mu\text{m}$ . Pemotongan jaringan larva (*sectioning*) dilakukan dengan menempelkan blok pada *holder*, siap untuk dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom putar secara *cross sectional* dengan ketebalan 4  $\mu\text{m}$ . Pita parafin yang dihasilkan selanjutnya dibuat preparat dengan dimasukkan dalam *waterbath* dan kemudian diletakkan pada *object glass*.

#### 5. Proses *Staining*

*Staining* adalah proses pewarnaan preparat jaringan dengan Hematoksilin-Eosin. Proses pewarnaan dimulai dengan merendam gelas objek berisi sampel dalam xilol sebanyak dua kali selama 10 menit agar pita parafin hilang (deparafinasi), selanjutnya rehidrasi zat warna yang larut dalam air. Kemudian dehidrasi zat warna larut alkohol bertingkat berturut-turut (70%, 80%, 96%, 100%) selama 5 menit. Jaringan kemudian dipindahkan ke pewarna hematoksilin selama 10 menit. Sampel direndam pada xilol agar gelas objek jernih. Sampel ditutup dengan *cover glass* dan direkatkan dengan perekat *entelan*. Preparat kemudian diberi label identitas.

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan mortalitas larva dilakukan dengan menghitung persentase mortalitas pada 30, 60 dan 1440 menit (Susilowati & Sari, 2022).

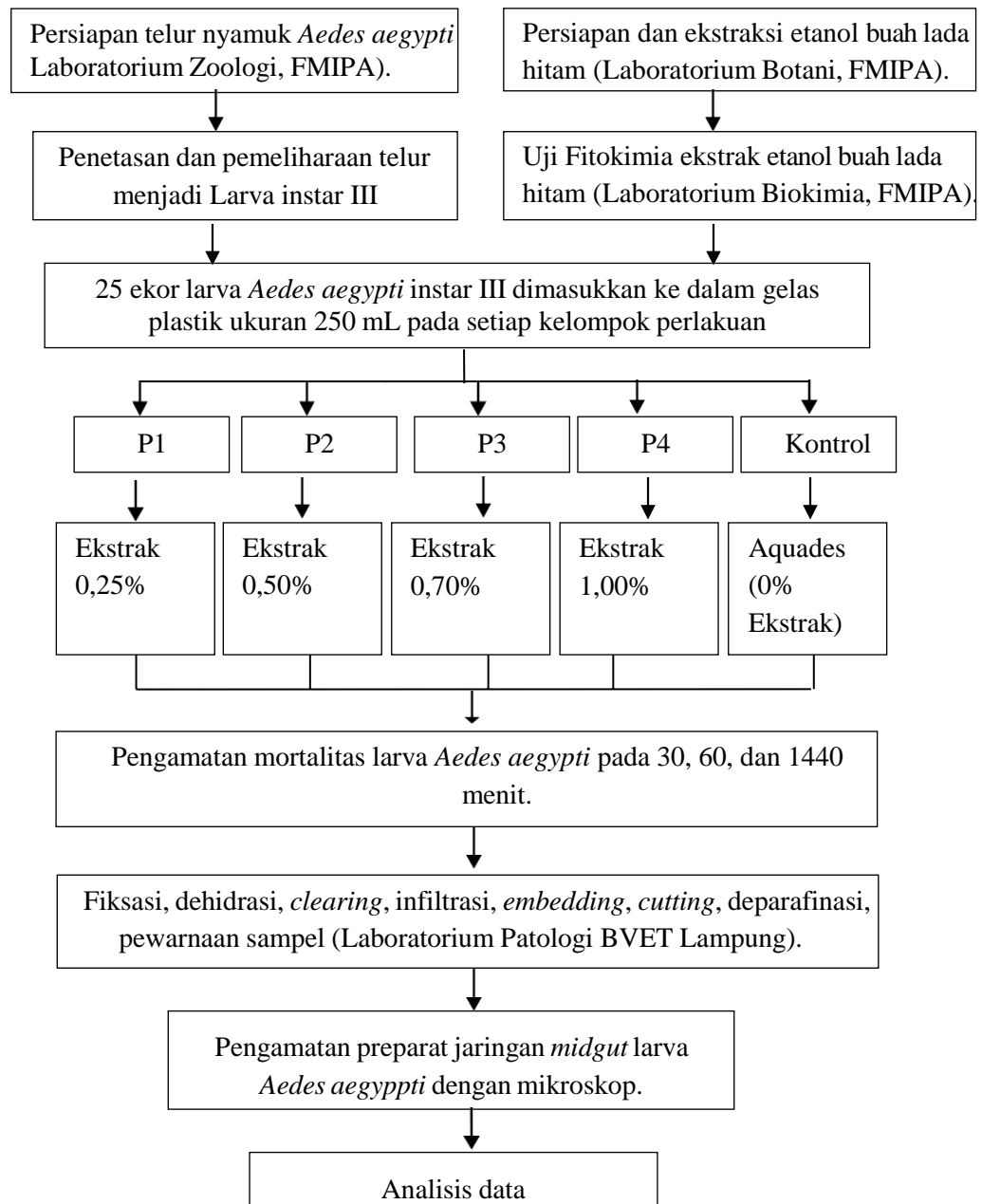
Kemudian setelah paparan ekstrak selama 24 jam diamati perubahan pada bagian luar tubuh dan *midgut* larva *Aedes aegypti*. Bagian luar tubuh diamati menggunakan mikroskop binokuler (Nikon, Jepang) dengan lensa objektif perbesaran 4x. Sedangkan pengamatan *midgut* larva menggunakan

mikroskop cahaya pembesaran 100x. Indikator pengamatan meliputi ada tidaknya kerusakan pada bagian membran pertiropik, sel epitel dan membran basalis (Mading dkk., 2018).

### **3.6 Analisis Data**

Analisis data pengamatan mortalitas larva dilakukan menggunakan *IBM SPSS Statistics 29*. Data mortalitas larva *Aedes aegypti* pertama-tama diuji *analysis of varians* (ANOVA). Apabila diperoleh hasil yang signifikan dilakukan uji lanjutan dengan uji *Post hoc* LSD untuk menentukan perbedaan pengaruh antar konsentrasi perlakuan terhadap angka mortalitas secara statistik sehingga dapat diketahui konsentrasi yang paling efektif. Adapun pengamatan perubahan jaringan *midgut* larva *Aedes aegypti* dianalisis secara deskriptif dan data ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

### 3.7 Diagram Alir Penelitian



## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) efektif sebagai larvasida *Aedes aegypti* pada konsentrasi 1%.
2. Ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) menyebabkan perubahan morfologi *midgut* ditandai oleh kerusakan sel membran perifer, mikrovili, sel epitel, dan membran basalis.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal berikut.

1. Pengamatan jumlah mortalitas larva selama 48 jam dengan variabel kontrol positif seperti temephos (abate).
2. Uji biolarvasida terhadap perubahan histopatologi bagian kepala (*cephal*) dan usus depan (*foregut*) larva *Aedes aegypti*.
3. Uji ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap organisme non-target.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Agustina, W., Nurhamidah, N., & Handayani, D. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan beberapa Fraksi dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *ALOTROP*, 1(2).
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Farooq, S., Ali, M., & Khan, M. A. 2012. Biological Role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A Review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3): 1945-1953.
- Bermawie, N., Wahyuni, S., Heryanto, R., & Darwati, I. 2019. Morphological Characteristics, Yield and Quality of Black Pepper CIINTEN Variety in Threeagro Ecological Conditions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 292(1): 1-9.
- Berri, D. W., Almet, J., & Wuri, D. A. 2020. Aktivitas Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) sebagai Larvasida terhadap *Aedes aegypti* di Kecamatan Kelapa lima Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 8(1): 54-68.
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., Hay, S. I. 2013. The Global Distribution and Burden of Dengue. *Nature*, 496(7446): 504-507.
- Boesri, H., Heriyanto, B., Handayani, S. W., & Suwaryono, T. 2015. Uji Toksisitas beberapa Ekstrak Tanaman terhadap Larva *Aedes aegypti* Vektor Demam Berdarah Dengue. *Vektora*, 7(1): 29-38.
- Borror D.J., Triplehorn C.A., & Johnson NF. 1996. *Pengenalan Pelajaran Serangga* Edisi Keenam. Partosoedjono S, penerjemah; Brotowidjoyo MD, editor. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: An Introduction to The Study of Insects.



- Cahyati, H.W., Asmara, W., Umniyati, R.S., and Mulyaningsih, B. 2017. The Phytochemical Analysis of Hay Infusions and Papaya Leaf Juice as an Attractant Containing Insecticide for *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 12(2): 96-102.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2022. *Dengue vaccination: What everyone should know*.  
<https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/dengue/public/index.html>. Diakses pada 25 November 2022.
- Coon, K. L., Vogel, K. J., Brown, M. R., & Strand, M. R. 2014. Mosquitoes Rely on their Gut Microbiota for Development. *Molecular Ecology*, 23(11): 2727–2739.
- Costa, M., Pinheiro, D., Serrão, J., & Pereira, M. 2012. Morphological Changes in the Midgut of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) Larvae Following Exposure to an *Annona coriacea* (Magnoliales: Annonaceae) Extract. *Neotropical Entomology*, 41(4): 311–314.
- Dey, P., Goyary, D., Chattopadhyay, P., Kishor, S., Karmakar, S., & Verma, A. 2020. Evaluation of Larvicidal Activity of *Piper longum* Leaf against the Dengue Vector, *Aedes aegypti*, Malarial Vector, *Anopheles stephensi* and Filariasis Vector, *Culex quinquefasciatus*. *South African Journal of Botany*, 132: 482-490.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. 2020. Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*: 505-567.
- Dias, M. C., A. Pinto, C. G., & S. Silva, A. M. 2021. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17).
- Federer, W.T., 1997, *Experimental Design Theory and Application*, 3 th ed., New Delhi Bombay Calcuta. Oxford and IBH Publising Co.
- Gomes, A. R., Pires, A. S., Roleira, F. M., & J., E. 2022. The Structural Diversity and Biological Activity of Steroid Oximes. *Molecules*, 28(4): 1690.
- Goswami, A., & Malviya, N. 2020. Reassessing the Restorative Prospectives of the King of Spices Black Pepper. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3): 312–321.
- Hamid, A., Hamdin, & Maliga, I. 2022. GEBER PSN (Gerakan Bersama Pemberantasan Sarang Nyamuk) sebagai Upaya Pencegahan Penyakit Demam Berdarah Dengue di Dusun Kauman Labuhan Sumbawa. *AMMA : Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(6): 648–652.

- Harapan, H., Michie, A., Mudatsir, M., Sasmono, R. T., & Imrie, A. 2019. Epidemiology of Dengue Hemorrhagic Fever in Indonesia: Analysis of five decades Data from the National Disease Surveillance. *BMC Research Notes*, 12(1): 2-6.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hasrawati, H., Masriany, M., Hafsan, H., Nur, F. 2022. Pemberian Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) untuk Menekan Laju Pertumbuhan Kontaminan pada Kultur *in vitro* Tanaman Kentang. *Jurnal Mahasiswa Biologi*, 2(1): 15-20.
- Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. 2021. Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity—An Update and Forward Look. *Molecules*, 26(7): 1836.
- Hikmawanti, Ni Putu E., Hanani, E., Maharani, S., & Putri, Ajeng I. W. 2021. Kadar Piperin Ekstrak Buah Cabe Jawa dan Lada Hitam dari Daerah dengan Ketinggian Berbeda. *Jurnal Jamu Indonesia*, 6(1): 16-22.
- Inaba, K., Ebihara, K., Senda, M., Yoshino, R., Sakuma, C., Koiwai, K., Takaya, D., Watanabe, C., Watanabe, A., Kawashima, Y., Fukuzawa, K., Imamura, R., Kojima, H., Okabe, T., Uemura, N., Kasai, S., Kanuka, H., Nishimura, T., Watanabe, K., and Niwa, R. 2022. Molecular Action of Larvicidal Flavonoids on Ecdysteroidogenic Glutathione S-transferase Noppera-bo in *Aedes aegypti*. *BMC Biology*, 20(1): p. 43.
- Jeno, J. G. A., and Nakkeeran, E. 2022. Histological Changes in the Dengue Vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae Treated with Neem Oil loaded Niosomes. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(3): pp. 101943.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2022. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2021*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kolo, S. M. D., Fallo, G., & Neno, S. D. R. 2018. Aktivitas Biolarvasida Ekstrak Daun Sirsak dan Serai Wangi terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *JSLK*, 1(1): 13–16.
- Kumara, C. J., Nurhayani, Bestari, R. S., & Dewi, L. M. 2021. In *The 13 th University Research Colloquium 2021* (pp. 106–118). Klaten, Indonesia; Proceeding of The 13th University Research Colloquium 2021: Kesehatan dan MIPA.
- Lemos, A., Adam, F., Moura, K., Moraes, L., & Silva, O. 2018. Histological and Histochemical Characterization of the Midgut of Healthy *Aedes aegypti* Larvae. *Annual Research & Review in Biology*, 22(1): 1–15.

- Li, K., Zhang, H., Yang, J., Han, W., & Yin, H. 2018. Morphology and Fine Organization of the Midgut of *Gampsocleis gratiosa* (Orthoptera: Tettigoniidae). *PLoS ONE*, 13(7): 1-13.
- Mading, M., Rohmah, E.A., Utomo, B., dan Arwati, H. 2018. Perubahan Histopatologi Midgut Larva *An. vagus* (Diptera : Culicidae) akibat Paparan Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu* L). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 46(4): 269-274.
- Manongko, P. S., Sangia, M. S., & Momuata, L. I. 2020. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2): 64-69
- Marlik. 2017. *Temu Kunci sebagai Biolarvasida Aedes aegypti*. HAKLI Provinsi Jawa Timur.
- Maula, A. W., Fuad, A., dan Utarini, A. 2018. Ten-years Trend of Dengue Research in Indonesia and South-east Asian Countries: a Bibliometric Analysis. *Global Health Action*, 11(1): pp. 1504398.
- Mawarda, A., Samsul, E., & Sastyarina, Y. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11(1), 1-4
- Moghimpour, E., & Handali, S. 2015. Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications. *Annual Research & Review in Biology*. 5(3): 207-220.
- Mugford, S. T., & Osbourn, A. 2012. *Saponin Synthesis and Function: Isoprenoid Synthesis in Plants and Microorganisms*. Springer Science, UK. pp. 405-424.
- Mundim-Pombo, A.P.M., Carvalho, H.J.C., Rodrigues Ribeiro, R., Marisol, L., Augusto Maria, D., and Angelica Miglino, M. 2021. *Aedes aegypti*: egg Morphology and Embryonic Development. *Parasites Vectors*, 14(1): p. 531.
- Munte, L. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *PHARMACON*, 4(3): 41-50.
- Nurhaifah, D., & Sukesu, T. W. 2015. Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 9(3): 207-213.
- Ponlawat, A., Harwood, J. F., Putnam, J. L., Nitatsukprasert, C., Pongsiri, A., Kijchalao, U., Richardson, J. H. (2017). Field Evaluation of Indoor Thermal Fog and Ultra-Low Volume Applications For Control of *Aedes aegypti* in Thailand. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33(2): 116-127.

- Prayoga, G.I., Ropalia., Aini, S.N., Mustikarini, E.D., Rosalin, Y. 2020. Diversity of Black Pepper Plant (*Piper nigrum*) in Bangka Island (Indonesia) based on Agro-morphological Characters. *Biodiversitas*, 21(2): 652-660.
- Putri, I. N., & Yushananta, P. 2022. Efektivitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) sebagai Biolarvasida terhadap Larva *Culex* sp.. *Ruwa Jurai: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 15(3): hlm. 109.
- Putri, P. A., Chatri, M., Advinda, L., & Violita. 2023. Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2): 251-258.
- Rahmayunita, Rifqoh, Nurlailah, & Dwiyantri, R. D. 2022. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Jeruk Sambal (*Cytrus amblycarpa* (Hassk) Ochse) sebagai Biolarvasida terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Labora Medika*, 6(2): 33–35.
- Rao, M. R. K. 2020. Lethal Efficacy of Phytochemicals as Sustainable Sources of Insecticidal Formulations derived from the Leaf Extracts of Indian Medicinal Plants to control Dengue and Zika Vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *International Research Journal of Environmental Sciences*, 9(2): 44–54.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Ryan, S. J., Carlson, C. J., Mordecai, E. A., & Johnson, L. R. 2019. Global Expansion and Redistribution of *Aedes*-borne Virus Transmission Risk with ClimateCchange. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(3): 1-20.
- Salaki, C. L., Wungouw, H., & Makal, H. V. 2021. Efektivitas Biolarvasida Serai Wangi (*Cymbopogon nardus*) dengan Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2): hlm. 124.
- Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Fidalgo, L. M., Martorell, M., & Setzer, W. N. 2019. *Piper* Species: A Comprehensive Review on their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*, 24(7): 2-117.
- Salempa, Pince dan Muharram. 2016. *Senyawa Steroid dalam Tumbuhan Sayur*, Makassar: Badan Penerbit UNM.
- Scott, I. M., Jensen, H. R., Philogène, B. J. R., & Arnason, J. T. 2008. A Review of *Piper* spp. (Piperaceae) Phytochemistry, Insecticidal Activity and Mode of Action. *Phytochem Rev*, 7(1): 65–75.

- Senthil-Nathan, S. 2020. A Review of Resistance Mechanisms of Synthetic Insecticides and Botanicals, Phytochemicals, and Essential Oils as Alternative Larvicidal Agents against Mosquitoes. *Frontiers in Physiology*, 10(1591): 1-21.
- Silvério, M. R. S., Espindola, L. S., Lopes, N. P., & Vieira, P. C. 2020. Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. *Molecules*, 25(15): p. 3484.
- Solihat, Y., Rosa, E., Pratami, G. D., & Nurcahyani, N. 2021. The Effectiveness of Pepper Leaves (*Piper nigrum* L.) as a Larvacide of *Aedes aegypti* Mosquito. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati*, 8(2): 31–37.
- Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., & Kumar, A. 2019. Health Effects, Sources, Utilization and Safety of Tannins: a Critical Review. *Toxin Reviews*, 40(3): 1–13.
- Sudarmaja, I. M., Swastika, I. K., Diarthini, L. P., Prasetya, I. P., & Wirawan, I. M. 2022. Dengue Virus Transovarial Transmission Detection in *Aedes aegypti* from Dengue Hemorrhagic Fever Patients' Residences in Denpasar, Bali. *Veterinary World*, 15(4): 1149–1153.
- Sumekar, D. W., & Nurmaulina, W. 2016. Upaya Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* L. Menggunakan Bioinsektisida. *Majority*, 5(2): 131–135.
- Supriyono, Soviana, S., Musyaffa, M. F., Noviato, D., & Hadi, U. K. 2023. Morphological Characteristic of Dengue Vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Family: Culicidae) using Advanced Light and Scanning Electron Microscope. *Biodiversitas*, 24(2): 894-900.
- Susanti, & Suharyo. 2017. Hubungan Lingkungan Fisik dengan Keberadaan Jentik *Aedes* pada Area Bervegetasi Pohon Pisang. *Unnes Journal of Public Health*, 6(4): 272–276.
- Susilowati, R. P., & Sari, M. P. 2022. Histopathological Changes of Midgut Epithelial Cells of *Aedes aegypti* Larvae Exposed to Permot Leaf Extract (*Passiflora foetida*). *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 8(1): 53–63.
- Tamokou, J. D. D., Mbaveng, A. T., & Kuete, V. 2017. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, Elseiver. pp. 207–237.
- Teo, C.H.J., Lim, P.K.C., Voon, K. & Mak, J.W. 2017. Detection of dengue viruses and *Wolbachia* in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae from four urban localities in Kuala Lumpur, Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 34(3): 583–597.

- Theodora, L. 2018. *Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggirs (Garcinia mangostana ) sebagai Biolarvasida pada Larva Nyamuk Aedes aegypti Instar III melalui Kerusakan Midgut*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.
- Tjitrosoepomo., Gembong. 1988. *Taksonomi tumbuhan (Spermathopyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Tong, Z., He, W., Fan, X., & Guo, A. 2022. Biological Function of Plant Tannin and Its Application in Animal Health. *Frontiers in Veterinary Science*, 8: 803657.
- Ustiawaty, J., & Zacharia, E. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Mangrove *Rhizophora stylosa* sebagai Biolarvasida terhadap Perubahan Histologi Sel Epitel Midgut Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah Kesehatan*, 4(2): 128–139.
- WHO. 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*. World Health Organization.
- Wikandari, R.J., dan Surati. 2018. Efek Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap Morfologi dan Histologi Larva *Aedes aegypti*. *ASPIRATOR – Journal of Vector-borne Disease Studies*, 10(2): 119-126.
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. 2020. Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3): 1–13.
- Yulianti, L., Supriadin, A., dan Rosahdi, T.D. 2017. Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Ekstrak N-Heksana Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *al-Kimiya*, 4(1): 38-44.