

**PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA
Aedes aegypti SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAN
N-HEKSANA *Rhizophora apiculata* MENGGUNAKAN SCANNING
ELECTRON MICROSCOPE (SEM)**

(Tesis)

Oleh

NABILA FARAHDHIA

2427021007



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA
Aedes aegypti SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAN
N-HEKSANA *Rhizophora apiculata* MENGGUNAKAN SCANNING
ELECTRON MICROSCOPE (SEM)**

Oleh

NABILA FARAHDHIA

Tesis

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

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA *Aedes aegypti* SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA *Rhizophora apiculata* MENGGUNAKAN SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)

Oleh

NABILA FARAHDHIA

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit akibat infeksi virus dengue yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama. Upaya pengendalian vektor masih banyak bergantung pada insektisida sintetis, namun penggunaan berulang dapat memicu resistensi serta menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan larvasida alami yang lebih aman dan ramah lingkungan. *Rhizophora apiculata* berpotensi untuk dikembangkan karena mengandung metabolit sekunder yang bersifat bioinsektisida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan tingkat mortalitas serta mendeskripsikan perubahan morfologi dan histopatologi larva *Aedes aegypti* instar III setelah paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*. Penelitian ini eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor, yaitu jenis ekstrak dan konsentrasi (0,5%; 0,75%; 1%; 1,25%; serta kontrol akuades) dengan masing-masing lima ulangan. Data mortalitas dianalisis menggunakan *Two-Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut *Tukey Honestly Significant Difference* (HSD) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan mortalitas tertinggi pada konsentrasi 1,25%, yaitu 96% pada ekstrak etil asetat *Rhizophora apiculata* dan 93,6% pada ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata*. Pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) memperlihatkan kerusakan kutikula dan deformasi struktur tubuh larva pada bagian kepala, toraks, abdomen, dan papila anal. Pengamatan histopatologi menunjukkan disorganisasi epitel serta perubahan lumen usus tengah larva. Kesimpulannya, ekstrak etil asetat *Rhizophora apiculata* cenderung menghasilkan tingkat mortalitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* pada seluruh konsentrasi perlakuan.

Kata kunci: *Rhizophora apiculata*, *Aedes aegypti*, Larvasida Alami

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF *Aedes aegypti* LARVAE AFTER EXPOSURE TO ETHYL ACETATE AND N-HEXANE EXTRACT OF *Rhizophora apiculata* USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)

By

NABILA FARAHDHIA

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by dengue virus infection transmitted through the bite of the *Aedes aegypti* mosquito as the main vector. Vector control efforts still rely heavily on synthetic insecticides, but repeated use can trigger resistance and have negative impacts on the environment. Therefore, safer and more environmentally friendly natural larvicides are needed. *Rhizophora apiculata* has the potential to be developed because it contains secondary metabolites that are bioinsecticidal. This study aims to determine the differences in mortality rates and describe morphological and histopathological changes in third-instar *Aedes aegypti* larvae after exposure to ethyl acetate and n-hexane extracts of *Rhizophora apiculata*. This research is experimental using Completely Randomized Design (CRD) with two factors, namely the type of extract and concentration (0.5%; 0.75%; 1%; 1.25%; and aquadest control) with five replications each. Mortality data were analyzed using Two-Way Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey Honestly Significant Difference (HSD) test at the 5% level. The results showed the highest mortality at a concentration of 1.25%, namely 96% in the ethyl acetate extract of *Rhizophora apiculata* and 93.6% in the n-hexane extract of *Rhizophora apiculata*. Observations using a *Scanning Electron Microscope* (SEM) showed cuticle damage and deformation of the larval body structure in the head, thorax, abdomen, and anal papilla. Histopathological observations showed epithelial disorganization and changes in the lumen of the midgut of the larvae. In conclusion, the ethyl acetate extract of *Rhizophora apiculata* tended to produce higher mortality rates than the n-hexane extract of *Rhizophora apiculata* at all treatment concentrations.

Keywords: *Rhizophora apiculata*, *Aedes aegypti*, Natural Larvicide

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tesis

: **PERUBAHAN MORFOLOGI DAN
HISTOPATOLOGI LARVA *Aedes aegypti*
SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL
ASETAT DAN N-HEKSANA *Rhizophora
apiculata* MENGGUNAKAN SCANNING
ELECTRON MICROSCOPE (SEM)**

Nama Mahasiswa

: **Nabila Farahdhia**

NPM

: **2427021007**

Jurusan/Program Studi

: **Biologi/Magister Biologi**

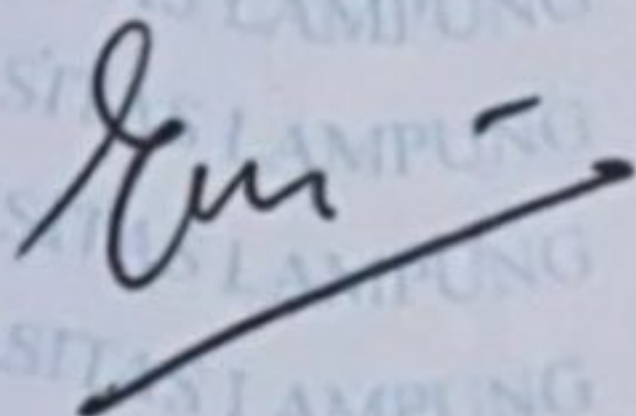
Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

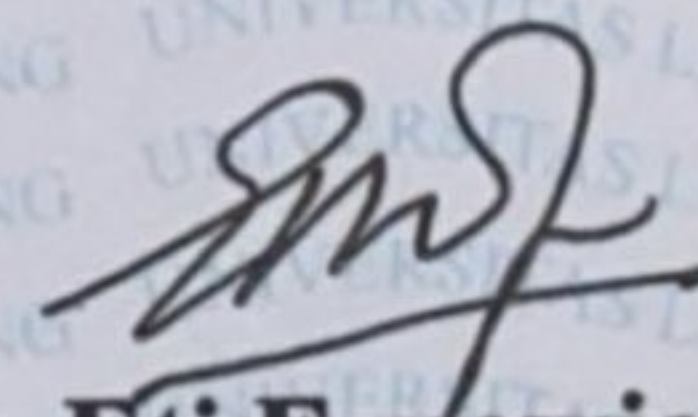
Pembimbing 1



Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed

NIP.196405171988032001

Pembimbing 2

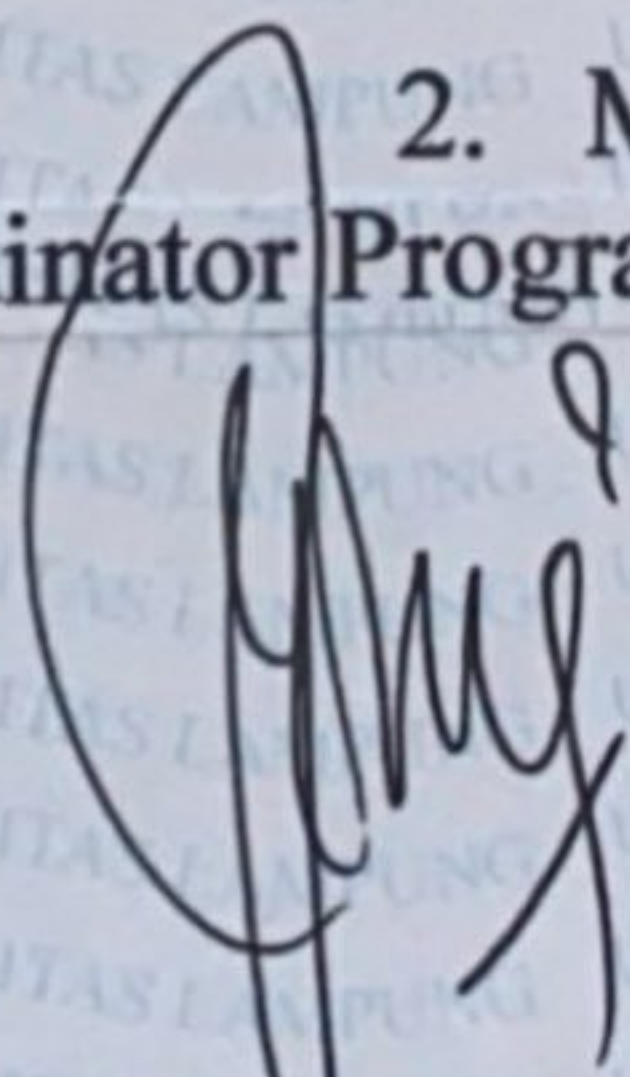


Dr. Eti Ernawati, M.P.

NIP.196408121990032001

2. Mengetahui

Koordinator Program Studi Magister Biologi



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.

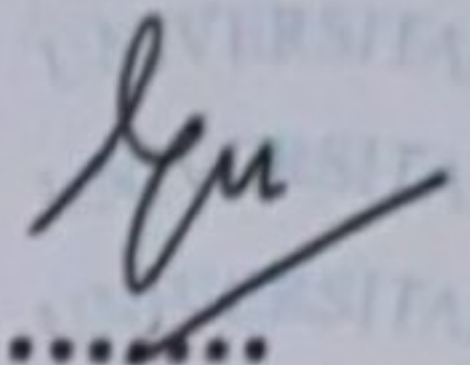
NIP.196603051991032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

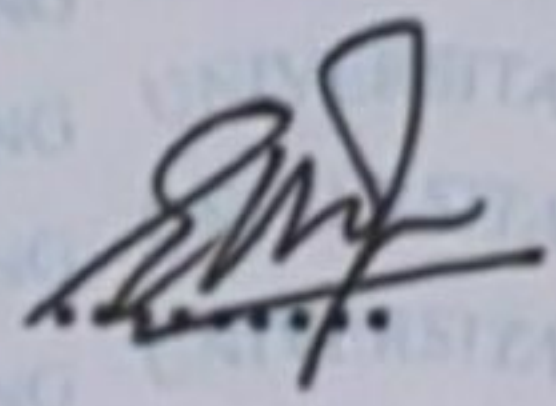
Ketua

: Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed.



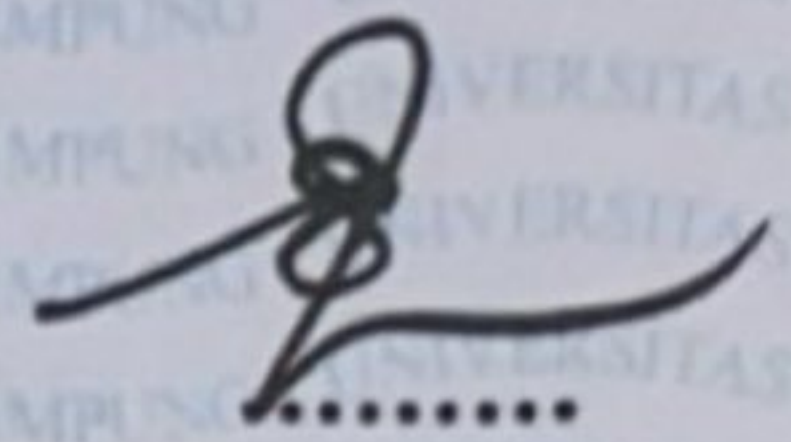
Sekretaris

: Dr. Eti Ernawati, M.P.



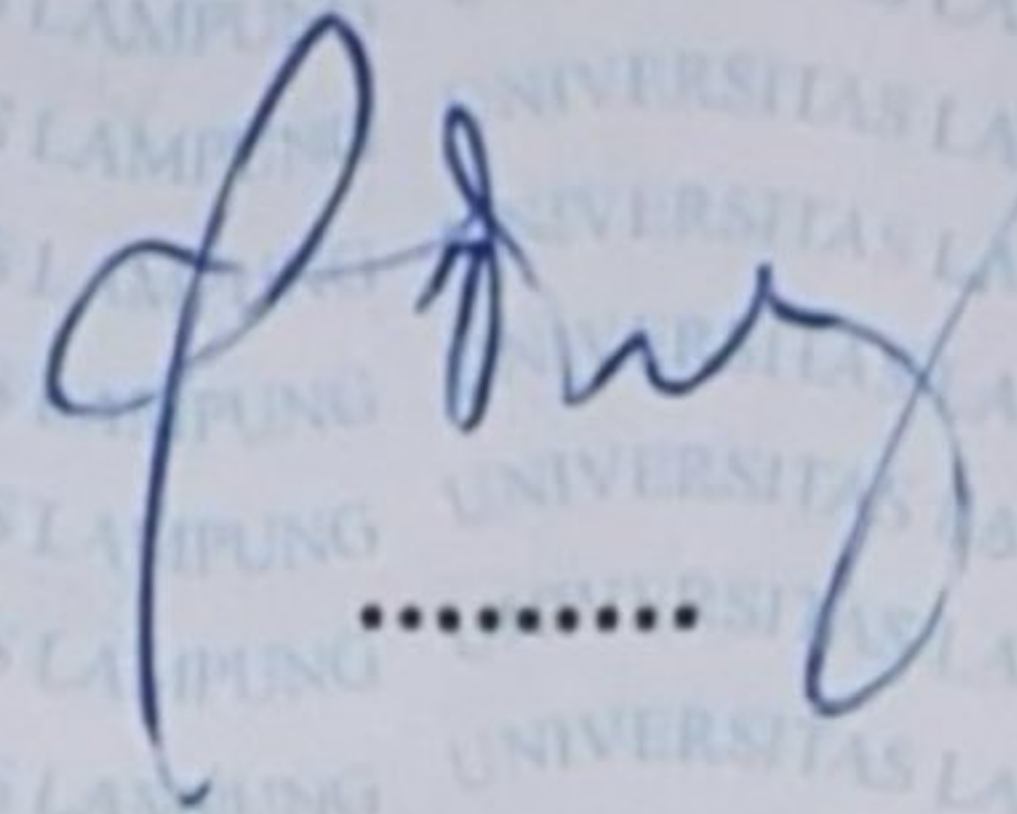
Penguji

Bukan Pembimbing I : Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.



Penguji

Bukan Pembimbing II : Rochmah Agustrina, Ph.D.



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

3. Direktur Program Pascasarjana



Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.

NIP. 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis: 25 Februari 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nabila Farahdhia
NPM : 2427021007
Program Studi : Magister Biologi

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam tesis yang berjudul:

**“PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA
Aedes aegypti SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAN
N-HEKSANA *Rhizophora apiculata* MENGGUNAKAN SCANNING
ELECTRON MICROSCOPE (SEM)”**

Baik gagasan, data, dan pembahasan adalah benar hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Tesis ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma yang berlaku.

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

Bandar Lampung, 25 Februari 2026

Pembuat Pernyataan



Nabila Farahdhia

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 29 Mei 2002, sebagai anak pertama dari Bapak Kalpitama S.Sos., M.M., dan Ibu Juni Darty Burniat S.P. Penulis memiliki satu orang adik laki-laki bernama Muhammad Aqil Rafif.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) di Sekolah Taruna Jaya Bandar Lampung pada tahun 2008, Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Al-Azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2017, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 3 Bandar Lampung pada tahun 2020.

Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswi biologi, penulis aktif di organisasi kemahasiswaan dalam kampus yaitu Himpunan Mahasiswa Biologi Universitas Lampung (HIMBIO UNILA) sebagai anggota bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat periode 2021. Selanjutnya, penulis menjabat sebagai Bendahara bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat di Himpunan Mahasiswa Biologi Universitas Lampung (HIMBIO UNILA) periode 2022. Selanjutnya, penulis bergabung di organisasi luar kampus yaitu Gerakan

Inovasi Perempuan dan Anak Indonesia sebagai Sekretaris Divisi *Public Speaker* periode 2022-2023. Selain itu, penulis juga menjadi asisten praktikum mata kuliah genetika pada tahun 2022.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan pada bulan Januari - Februari tahun 2023 di Laboratorium Mikrobiologi UPTD Penerapan Mutu Hasil Perikanan (PMHP) Provinsi Lampung dan telah menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangan dengan judul “Pengujian Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Udang Beku (*Litopenaeus vannamei*) di Laboratorium Mikrobiologi UPTD Penerapan Mutu Hasil Perikanan (PMHP) Provinsi Lampung”. Kemudian, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Juni-Agustus 2023 di Desa Margodadi, Kecamatan Way Lima, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Penulis melaksanakan penelitian skripsi untuk mendapat gelar sarjana sains dengan judul “Uji efektivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”. Penulis lulus dan mendapat gelar sarjana sains pada Mei 2024.

Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang magister melalui jalur PMB Pascasarjana Universitas Lampung Gelombang II pada Juli 2024 dan mulai menjadi mahasiswi baru magister biologi pada Agustus 2024. Selama menjadi mahasiswi magister, penulis menjadi penerima Beasiswa S2 Bebas Uang Kuliah Pascasarjana Universitas Lampung Tahun Akademik 2024/2025. Penulis juga sering menjadi *master of ceremony* di berbagai acara baik kemahasiswaan maupun nonkemahasiswaan. Selain itu juga, penulis juga aktif menjadi *Key Opinion Leader* dalam berbagai bidang.

PERSEMBAHAN

*Bismillahirrahmanirrahim. Allahuma sholli ala sayyidina
Muhammad, wa'ala ali sayyidina Muhammad.*

Dengan mengucapkan rasa syukur yang tak terhingga atas berkat dan rahmat Allah Yang Maha Kuasa, kupersembahkan tesis ini yang kukerjakan dengan sepenuh hati ini kepada:

Kedua Orangtuaku,

Bapak Kalpitama S.Sos., M.M. dan Ibu Juni Darty Burniat S.P.

yang cinta dan kasih sayangnya tak terhitung dan tak terbatas, selalu berusaha memberikan yang terbaik, serta tak kenal lelah memberikan nasihat, dukungan, motivasi, serta doa sehingga tesis ini dapat selesai tepat waktu.

Diri Sendiri, Nabila Farahdhia

Seorang anak perempuan yang mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan, sudah mampu bertahan dan berjuang sejauh ini, dan tidak pernah menyerah sesulit apapun proses penyusunan tesis ini.

Dosen-dosen pembimbing dan pembahasku,

Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed., Dr. Eti Ernawati, M.P., Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed., dan Rochmah Agustrina, Ph.D. yang dengan sepenuh hati dan meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan dukungan, memberikan motivasi, memberikan saran dan masukan, serta memfasilitasi segala bentuk rangkaian proses dalam penelitian hingga terciptanya penulisan tesis ini.

MOTTO HIDUP

Karya ini dipersembahkan untuk Buyah, Ibu, dan Adik Tercinta
Keluarga Besarku serta orang-orang terdekat dan tersayang.

Hidup bukan tentang siapa yang lebih cepat, tetapi tentang kesetiaan pada proses
dan waktu sendiri.

(Penulis)

Jalan panjang kita semoga menyenangkan karena kita masih muda dalam mencari
keputusan.

(Nadin Amizah dan Melly Goeslaw)

حَسْبُنَا اللَّهُ وَنِعْمَ الْوَكِيلُ

“Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik Sandaran”
(QS Ali 'Imron: 163).

Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka
merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri (QS Ar-Rad: 11).

SANWACANA

Segala puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT. sehingga penulis memiliki segala kesehatan, kesempatan, kenikmatan, kemudahan, kekuatan, dan kesabaran dalam menyelesaikan tesis yang berjudul “**PERUBAHAN MORFOLOGI DAN HISTOPATOLOGI LARVA *Aedes aegypti* SETELAH PAPARAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA *Rhizophora apiculata* MENGGUNAKAN *SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)***” yang menjadi syarat kelulusan dalam menyelesaikan kuliah dan memperoleh gelar magister di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Selama proses penyusunan dan penulisan tesis ini, penulis mendapatkan bantuan, dukungan, motivasi, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak kepada penulis. Untuk itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng. Selaku rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Kepala Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

5. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed., selaku Pembimbing I tesis sekaligus Pembimbing Akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta selalu sabar memberikan arahan, bimbingan, dan nasihat untuk tidak pernah putus asa kepada penulis selama menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
6. Ibu Dr. Eti Ernawati, M.P., selaku Pembimbing II tesis yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta selalu sabar memberikan arahan, bimbingan, dan nasihat untuk tidak pernah putus asa kepada penulis selama menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
7. Ibu Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed., selaku Pembahas I yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran, dan nasihat agar penulis lebih berkembang menjadi pribadi yang lebih baik.
8. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D., selaku Pembahas II yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran, dan nasihat agar penulis lebih berkembang menjadi pribadi yang lebih baik.
9. Seluruh Staf Dosen dan staf karyawan Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah berjasa selama ini.
10. Seluruh Staf dan Karyawan di Laboratorium Saintek Universitas Raden Intan (UIN RIL) Lampung yang dengan sabar membimbing, memberikan ilmunya, dan memberikan kemudahan selama proses penelitian kepada penulis.
11. Seluruh Staf dan Karyawan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung yang dengan sabar membimbing, memberikan ilmunya, dan memberikan kemudahan selama proses penelitian kepada penulis.
12. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Kalpitama S.Sos., M.M., dan Ibu Juni Darty Burniat S.P., serta adik yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, kasih sayang, memberikan masukan dan motivasi terbaiknya, serta pengorbanan tanpa henti untuk penulis untuk mencapai keberhasilan.
13. Ammar Sayid Fadhil Husin, sebagai *support system* yang memberikan dukungan moral dan perhatian dalam menghadapi proses penyusunan tesis ini.

14. Rekan-rekan seangkatan Magister Biologi 2024, terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan tawa yang menemani setiap langkah dalam perjalanan penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kata sempurna, namun tesis ini penulis harapkan dapat bermanfaat di kemudian hari.

Bandar Lampung, 25 Februari 2026

Penulis

Nabila Farahdhia

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
MENGESAHKAN	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO HIDUP.....	x
SANWACANA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
 I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	5
1.3 Manfaat Penelitian	5
1.4 Kerangka Pemikiran.....	5
1.5 Hipotesis	7

II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Tanaman Mangrove dan <i>Rhizophora apiculata</i>	8
2.1.1. Deskripsi Umum Ekosistem Mangrove	8
2.1.2. Klasifikasi dan Morfologi <i>Rhizophora apiculata</i>	9
2.1.3. Kandungan Senyawa <i>Rhizophora apiculata</i>	11
2.2. Ekstraksi Senyawa Bioaktif	12
2.2.1. Karakteristik Pelarut Etil Asetat (Semipolar)	13
2.2.2. Karakteristik Pelarut N-Heksana (Nonpolar)	14
2.2.3. Perbandingan Etil Asetat dan N-Heksana	14
2.3. <i>Aedes aegypti</i>	15
2.3.1. Morfologi dan Klasifikasi	15
2.3.3 Peran <i>Aedes aegypti</i> sebagai Vektor Demam Berdarah	18
2.3.4 Strategi Pengendalian Populasi Nyamuk	19
2.3.5 Masalah Resistensi Insektisida Sintetis	20
2.4 Larvasida Nabati	20
2.4.1 Mekanisme Larvasida Nabati terhadap Serangga	20
2.4.2 Efek Fisiologis dan Morfologis pada Larva Nyamuk (<i>Aedes aegypti</i>)	21
2.4.3 Indikator Kerusakan Larva	22
2.5 Analisis Morfologi Menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	23
2.5.1 Prinsip Dasar dan Cara Kerja <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	23
2.5.2 Keunggulan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) dalam Analisis Ultrastruktur Larva Serangga	24
2.5.3 Perubahan Morfologi Permukaan Larva Setelah Paparan Ekstrak Nabati	25
2.6 Histopatologi Larva <i>Aedes aegypti</i>	26
2.6.1 Konsep Histopatologi pada Jaringan Serangga	26
2.6.2 Prinsip Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada Larva	27
2.6.3 Indikasi Kerusakan Jaringan Setelah Paparan Larvasida Nabati	28
2.6.4 Perubahan Struktur Jaringan Usus, Kutikula, Otot, dan Organ Penting Larva	29
III. METODE PENELITIAN	30
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	30
3.2 Alat dan Bahan	30
3.2.1 Alat	30
3.2.2 Bahan	31
3.3 Rancangan Penelitian	31
3.4 Pelaksanaan Penelitian	33

3.4.1	Persiapan Sampel	33
3.4.2	Pembuatan Simplisia.....	33
3.4.3	Pembuatan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i>	33
3.4.4	Pembuatan Kosenstrasi Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i>	34
3.4.5	Uji Fitokimia Metabolit Sekunder	35
3.4.6	Pengamatan Aktivitas Larvasida	36
3.4.7	Pengamatan Morfologi Menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	37
3.4.8	Pengamatan Histopatologi Menggunakan Mikroskop Cahaya Perbesaran 400 (40 x 10).....	38
3.5	Analisis Data.....	40
3.6	Bagan Alir Penelitian	41
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1	Hasil Pengamatan.....	42
4.1.1	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i>	42
4.1.2	Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> 24 Jam Perlakuan	46
4.1.3	Perubahan Morfologi Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> Berdasarkan Pengamatan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	49
4.1.4	Perubahan Histopatologi Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> Berdasarkan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).....	67
4.2	Pembahasan.....	72
4.2.1	Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> 24 Jam Perlakuan	72
4.2.2	Perubahan Morfologi Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> Berdasarkan Pengamatan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	76
4.2.3	Perubahan Histopatologi Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> Berdasarkan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).....	80
4.2.4	Mekanisme Kerja Ekstrak <i>Rhizophora apiculata</i> Sebagai Larvasida Nabati	83
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	86
5.1	Kesimpulan	86
5.2	Saran	86
	DAFTAR PUSTAKA.....	87

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i> Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III	32
2. Pembuatan Larutan Perlakuan Etil Asetat dan N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i> Sebagai Larutan Uji Aktivitas Larvasida	35
3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i> ..	43
4. Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	46
5. Persentase Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i> (Persentase Mean $\pm$ SD).....	48
6. Perubahan Morfologi Kepala Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat <i>Rhizophora apiculata</i>	51
7. Perubahan Morfologi Toraks Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat <i>Rhizophora apiculata</i>	53
8. Perubahan Morfologi Abdomen Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat <i>Rhizophora apiculata</i>	55
9. Perubahan Morfologi Papila Anal Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat <i>Rhizophora apiculata</i>	57
10. Perubahan Morfologi Kepala larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak N-heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	59
11. Perubahan Morfologi Toraks Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	61

12. Perubahan Morfologi Abdomen Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	63
13. Perubahan Morfologi Papila Anal Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Setelah Paparan Ekstrak N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	65
14. Gambaran Histopatologi Usus Tengah Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Perbesaran 400 (40x10) Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat <i>Rhizophora apiculata</i>	68
1. Gambaran Histopatologi Usus Tengah Larva <i>Aedes aegypti</i> Instar III Perbesaran 400 (40x10) Setelah Paparan Ekstrak N-Heksana <i>Rhizophora apiculata</i>	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Rhizophora apiculata</i>	10
2. Morfologi Luar Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	16
3. Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i>	18
4. Bagan Alir Penelitian	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Data Mortalitas Larva *Aedes aegypti* Instar III Antar perlakuan Konsentrasi Ekstrak *Rhizophora apiculata* Setelah 24 Jam Perlakuan
2. Uji Statistik
3. Dokumentasi Penelitian
4. Hasil Identifikasi Tanaman
5. Surat Pembelian Telur Nyamuk *Aedes aegypti*
6. Surat Izin Penelitian
7. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak *Rhizophora apiculata*

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di wilayah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (World Health Organization, 2023). Penyakit DBD mengakibatkan manifestasi klinis yang beragam, mulai dari demam ringan hingga komplikasi berat seperti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS). Menurut laporan World Health Organization (WHO) tahun 2023, sekitar 390 juta infeksi dengue terjadi setiap tahun di seluruh dunia, dengan 96 juta kasus menampilkan gejala klinis yang memerlukan penanganan medis (WHO, 2023).

Aedes aegypti merupakan vektor utama penyebaran virus dengue. Spesies ini memiliki ciri morfologis khas, yaitu tubuh hitam dengan belang putih pada kaki, toraks, dan abdomen (Achee *et al.*, 2019). Siklus hidupnya terdiri dari empat tahap: telur, larva, pupa, dan dewasa, yang dapat selesai hanya dalam 7–10 hari pada kondisi lingkungan optimal (Suwartawan *et al.*, 2022). Nyamuk betina bertelur pada air jernih di tempat penampungan buatan seperti bak mandi, drum, dan vas bunga (da silva *et al.*, 2023). Aktivitas menggigit yang terjadi pada pagi dan sore hari menyebabkan *Aedes aegypti* lebih efektif sebagai vektor penular virus dengue. Selain itu, perubahan iklim seperti meningkatnya suhu dan curah hujan mempercepat siklus hidup nyamuk ini sehingga memperluas penyebaran penyakit DBD (Achee, *et al.*, 2019).

Di Indonesia, data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI, 2024) menunjukkan hingga pekan ke-16 tahun 2024 tercatat 76.132 kasus DBD dengan 540 kematian. Angka kejadian yang tinggi ini menunjukkan bahwa pengendalian vektor masih menjadi tantangan besar bagi kesehatan masyarakat. Upaya pengendalian vektor yang ada saat ini umumnya mencakup tiga strategi utama, yaitu pengendalian fisik melalui pengelolaan lingkungan dan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN); pengendalian biologis dengan memanfaatkan predator alami, seperti ikan pemakan jentik atau bakteri endosimbion *Wolbachia*; serta pengendalian kimia menggunakan insektisida sintetis seperti organofosfat dan piretroid (WHO, 2020).

Penggunaan insektisida kimia yang berulang dan dalam jangka panjang telah menyebabkan resistensi pada populasi *Aedes aegypti*, sehingga efektivitas pengendalian vektor menjadi menurun. Penggunaan intensif insektisida gagal karena resistensi seperti mutasi target site dan resistensi metabolik (Ridha *et al.*, 2025). Resistensi terjadi akibat seleksi alami yaitu individu yang memiliki mutasi resisten bertahan hidup dan mewariskan sifat tersebut pada generasi berikutnya. Hal itu mengakibatkan populasi nyamuk yang menjadi lebih sulit dikendalikan. Selain itu, penggunaan insektisida sintetis secara berlebihan dapat mencemari lingkungan, membahayakan organisme nontarget, serta memicu masalah kesehatan pada manusia (WHO, 2022).

Masalah resistensi dan dampak negatif insektisida sintetis menuntut adanya alternatif pengendalian vektor yang efektif, ramah lingkungan, dan berkelanjutan. Salah satu alternatif yang menjanjikan adalah penggunaan larvasida alami berbasis tumbuhan, yang bekerja memutus siklus hidup nyamuk pada fase larva sehingga mengurangi populasi nyamuk dewasa (Anggraini *et al.*, 2022).

Tumbuhan diketahui menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan alkaloid yang memiliki aktivitas larvasida terhadap *Aedes aegypti*. Senyawa bioaktif ini bekerja dengan mengganggu sistem saraf, pencernaan, respirasi, atau integumen larva nyamuk, sehingga menghambat pertumbuhan dan perkembangan mereka hingga fase dewasa (Sharma, 2016). Keunggulan larvasida berbasis tumbuhan adalah sifatnya yang biodegradabel, relatif aman bagi organisme nontarget, dan risiko untuk memicu resistensi pada populasi nyamuk yang lebih rendah, sehingga menjadikannya strategi pengendalian vektor yang berkelanjutan dan ramah lingkungan (Peel & Kolega, 2023).

Salah satu kandidat potensial sebagai larvasida alami adalah *Rhizophora apiculata*, yang tumbuh di ekosistem mangrove. Ekosistem mangrove ini terkenal kaya akan keanekaragaman hayati dan menghasilkan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas insektisida (Inayah & Bestari, 2025). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, yang dapat mengganggu organ internal larva *Aedes aegypti*, termasuk merusak midgut, kutikula, serta menghambat penyerapan nutrisi sehingga mengurangi pertumbuhan larva hingga fase dewasa (Sari, 2017).

Ekstrak dengan pelarut semipolar seperti etil asetat mampu menembus kutikula larva dan menyebabkan berbagai kerusakan morfologis seperti retakan integumen, deformasi sifon pernapasan, serta kerusakan setae yang teramati melalui hasil pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Sayono *et al.*, 2020). Mekanisme ini terjadi karena senyawa aktif dalam fraksi etil asetat (misalnya flavonoid dan tanin) dapat berikatan dengan protein dan lipid penyusun kutikula, mengganggu lapisan lilin dan membran epitel integumen larva sehingga integritas fisik terganggu. Interaksi tersebut menghambat fungsi protektif integumen, sehingga larva mengalami kehilangan cairan tubuh, dehidrasi, dan akhirnya kematian (Tan *et al.*, 2023).

Sementara itu, ekstrak n-heksana yang bersifat nonpolar bekerja dengan melarutkan komponen lipid membran sel dan mengganggu aktivitas enzim metabolisme penting (seperti asetilkolinesterase dan oksidase) yang berperan dalam respirasi dan transmisi saraf larva (Warikoo *et al.*, 2012). Kerusakan membran sel akibat senyawa nonpolar (terpenoid dan sterol) menyebabkan kebocoran ion, gangguan osmoregulasi, dan metabolisme, yang kemudian memicu kelumpuhan dan kematian larva. Mekanisme multitarget dari kedua fraksi ini, baik melalui kerusakan struktur luar maupun gangguan fisiologi internal, diharapkan dapat memperkecil kemungkinan resistensi terhadap senyawa aktif alami (Silverio *et al.*, 2020).

Pemahaman mekanisme kerja larvasida alami memerlukan analisis yang lebih komprehensif, tidak hanya berdasarkan tingkat mortalitas larva. *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat memperlihatkan kerusakan permukaan tubuh larva secara detail, sedangkan histopatologi dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dapat memperlihatkan kerusakan jaringan internal seperti disintegrasi sel epitel usus tengah, kerusakan mikrovili, dan destruksi lumen (Serdeiro *et al.*, 2023). Kombinasi kedua metode ini akan memberikan gambaran lengkap mengenai efek larvasida pada tingkat morfologi dan seluler.

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menganalisis perbandingan tingkat mortalitas larva setelah paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*, serta untuk mendeskripsikan perubahan struktur morfologi pada permukaan tubuh larva melalui analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan perubahan jaringan internal dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Oleh karena itu, penulis tertarik melakukan penelitian yang berjudul **“Perubahan Morfologi dan Histopatologi Larva *Aedes aegypti* Setelah Paparan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana *Rhizophora apiculata* Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)”**.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. mengetahui perbedaan tingkat mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III yang disebabkan oleh paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*;
2. mendeskripsikan perubahan morfologi larva *Aedes aegypti* instar III setelah paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* melalui analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM);
3. mendeskripsikan perubahan histopatologi jaringan larva *Aedes aegypti* instar III setelah paparan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* menggunakan mikroskop cahaya dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah berupa data mengenai ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* sebagai larvasida alami terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Gambaran detail mengenai perubahan morfologi yang diperoleh dari hasil *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan histopatologi dari hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dapat menjadi dasar pemahaman mekanisme kerjanya. Secara praktis, hasil penelitian ini dapat menjadi referensi pengembangan larvasida alami yang ramah lingkungan dan mengurangi ketergantungan pada insektisida sintetis.

1.4 Kerangka Pemikiran

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida sintetis secara intensif dalam pengendalian vektor menimbulkan resistensi, sehingga efektivitasnya semakin menurun. Kondisi ini mendorong perlunya dicari larvasida alternatif yang aman,

ramah lingkungan, serta berasal dari bahan alami. Salah satunya adalah *Rhizophora apiculata*, yang diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan steroid dengan potensi sebagai insektisida botanis.

Ekstraksi menggunakan pelarut berbeda memungkinkan sejumlah isolasi senyawa dengan polaritas yang bervariasi. Etil asetat (semipolar) cenderung melarutkan senyawa fenolik (flavonoid, tanin, alkaloid) yang diketahui aktif mengganggu metabolisme dan sistem pencernaan larva. Sementara itu, n-heksana (nonpolar) mengekstrak terpenoid dan steroid yang mampu menembus membran sel larva dan merusak fungsi fisiologisnya. Perbedaan sifat pelarut ini diperkirakan menimbulkan variasi aktivitas larvasida yang dapat diamati melalui tingkat mortalitas larva, kerusakan struktur eksternal larva, dan jaringan internal larva.

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah mengenai mekanisme ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* sebagai larvasida alami terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Selain itu, pengamatan perubahan morfologi menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan pengamatan perubahan histopatologi menggunakan mikroskop cahaya dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) dapat menjelaskan mekanisme kerusakan pada permukaan tubuh dan jaringan internal larva. Secara praktis, penelitian ini diharapkan menjadi dasar dalam pengembangan larvasida botanis yang ramah lingkungan, mengurangi ketergantungan pada insektisida sintetis, serta mendukung pengendalian vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) secara berkelanjutan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut.

1. perlakuan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* menyebabkan perbedaan yang signifikan terhadap tingkat mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III;
2. perlakuan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* menyebabkan perubahan morfologi yang signifikan yang diamati dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM);
3. perlakuan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* menyebabkan perubahan histopatologi jaringan internal yang signifikan yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Mangrove dan *Rhizophora apiculata*

2.1.1. Deskripsi Umum Ekosistem Mangrove

Ekosistem mangrove merupakan ekosistem khas di wilayah pesisir yang ditandai oleh keberadaan vegetasi hutan mangrove yang mampu tumbuh pada daerah pasang surut dengan kondisi tanah berlumpur, berpasir, dan berlempung. Hutan mangrove memiliki fungsi ekologis penting, antara lain sebagai pelindung pantai dari abrasi, tempat pemijahan (*nursery ground*) berbagai biota laut, serta sebagai penahan intrusi air laut ke daratan (Kathiresan, 2015). Keberadaan hutan mangrove juga berperan besar dalam menjaga kestabilan garis pantai dan mengurangi dampak gelombang tsunami serta badai (Duke, 2017).

Selain fungsi ekologis, ekosistem mangrove juga berperan penting dalam siklus karbon global. Vegetasi mangrove dikenal sebagai penyerap karbon biru (*blue carbon*) yang sangat efektif karena mampu menyimpan karbon dalam jumlah besar baik pada biomassa maupun pada sedimen (Alongi, 2012). Sehingga, ekosistem mangrove memiliki kontribusi signifikan terhadap mitigasi perubahan iklim melalui penyerapan karbon dioksida atmosfer.

Secara sosial ekonomi, ekosistem mangrove juga memberikan manfaat langsung bagi masyarakat pesisir, seperti penyedia kayu bakar, bahan bangunan, obat-obatan tradisional, serta sebagai sumber mata pencaharian melalui perikanan dan ekowisata (Spalding *et al.*, 2014). Keberlanjutan ekosistem mangrove sangat dipengaruhi oleh aktivitas manusia, sehingga diperlukan pengelolaan berbasis ekosistem untuk menjamin kelestarian fungsi ekologis dan ekonominya. Dengan demikian, ekosistem mangrove merupakan sistem yang kompleks dan multifungsi, baik dari sisi ekologi, sosial, maupun ekonomi. Namun, kerusakan akibat alih fungsi lahan menjadi tambak, pemukiman, dan kegiatan industri menyebabkan penurunan luas dan fungsi ekosistem ini secara global, termasuk di Indonesia (Giri *et al.*, 2011).

2.1.2. Klasifikasi dan Morfologi *Rhizophora apiculata*

Klasifikasi tanaman bakau menurut sistem klasifikasi Cronquist (1981) dan APG II (2003) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliophyta
Bangsa	: Malpighiales
Suku	: Rhizophoraceae
Marga	: <i>Rhizophora</i>
Jenis	: <i>Rhizophora apiculata</i> Blume

Spesies ini dikenal sebagai salah satu mangrove yang memiliki toleransi tinggi terhadap salinitas dan kondisi anaerob, sehingga mendominasi kawasan pesisir yang sering tergenang. Peran ekologisnya penting dalam menjaga kestabilan ekosistem pesisir sekaligus sebagai penyedia berbagai metabolit sekunder dengan potensi bioaktif (Bandaranayake, 2002).

Secara morfologi, *Rhizophora apiculata* memiliki akar tunjang (*stilt roots*) yang besar dan kokoh, membantu menopang pohon pada substrat lumpur yang lunak serta berfungsi dalam respirasi (Parida & Jha, 2010). Batangnya berkayu keras dengan kulit berwarna coklat tua hingga hitam, sedangkan daunnya berbentuk elips-lonjong, berwarna hijau mengilap dengan ujung meruncing dan terdapat bintik-bintik hitam di bagian bawah daun (Amaliyah *et al.*, 2017).

Bunga *Rhizophora apiculata* berukuran kecil, berwarna putih kekuningan, tumbuh berpasangan pada tangkai bunga. Buahnya berbentuk lonjong, berwarna hijau tua ketika muda dan berubah coklat kehitaman saat masak. Propagul berbentuk silindris memanjang hingga 70 cm, yang berfungsi sebagai alat penyebaran dengan cara terapung di perairan sebelum tumbuh di substrat yang sesuai (Fernando *et al.*, 2021). Berikut adalah gambar *Rhizophora apiculata* yang dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. *Rhizophora apiculata* (Dokumentasi Pribadi, 2025).

2.1.3. Kandungan Senyawa *Rhizophora apiculata*

Selain itu, flavonoid juga berpotensi sebagai antibakteri, antimalaria, dan antikanker berdasarkan hasil uji farmakologis. Tanin dalam *Rhizophora apiculata* memiliki sifat astringent yang berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa ini diketahui efektif sebagai antibakteri, antijamur, serta larvasida terhadap serangga tertentu (Abeyasinghe, 2010). Saponin yang juga terdapat dalam daun berfungsi sebagai surfaktan alami yang dapat merusak membran sel serangga, sehingga berpotensi digunakan sebagai pestisida nabati. Selain itu, metabolit sekunder dari mangrove juga mengandung senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan sitotoksik. Kandungan kimia tersebut mendasari pemanfaatan *Rhizophora apiculata* dalam pengobatan tradisional dan penelitian modern untuk pengembangan obat berbasis bahan alam (Wardina *et al.*, 2025).

Rhizophora apiculata diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi sebagai bioinsektisida, terutama flavonoid, tanin, terpenoid, dan steroid. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut berperan dalam sistem pertahanan tanaman terhadap herbivora dan patogen, yang secara biologis juga dapat memberikan efek toksik terhadap serangga (Ravikumar *et al.*, 2011). Flavonoid diketahui memiliki aktivitas larvasida melalui mekanisme gangguan pada sistem pencernaan dan membran sel larva, serta dapat memicu stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel (Patil *et al.*, 2024). Tanin bersifat astringen dan mampu berikatan dengan protein, termasuk enzim pencernaan larva, sehingga menghambat proses metabolisme dan penyerapan nutrisi (Abeyasinghe, 2010).

Terpenoid yang bersifat lipofilik dapat menembus kutikula larva dan mengganggu sistem saraf maupun metabolisme sel, sedangkan steroid tumbuhan berpotensi menginterferensi keseimbangan

hormonal serangga yang berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Kombinasi aktivitas dari metabolit sekunder tersebut mendukung potensi *Rhizophora apiculata* sebagai larvasida nabati, yang dapat dikaitkan dengan peningkatan mortalitas serta perubahan morfologi dan histopatologi larva yang diamati (Wardina *et al.*, 2025).

2.2. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Ekstraksi merupakan metode pemisahan senyawa bioaktif dari matriks tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip dasar ekstraksi adalah perbedaan kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu sehingga senyawa yang diinginkan dapat terpisah dari komponen lain yang tidak larut dalam pelarut tersebut (Mukhriani, 2014). Metode ini banyak digunakan dalam penelitian fitokimia karena mampu memperoleh metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.

Pemilihan pelarut menjadi faktor penting dalam ekstraksi. Pelarut organik digunakan berdasarkan tingkat polaritasnya untuk menarik senyawa dengan karakteristik kelarutan tertentu. Pelarut polar cenderung melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut nonpolar mengekstraksi senyawa lipofilik seperti minyak dan lemak (Sarker & Nahar, 2012). Sehingga, pemahaman polaritas sangat penting agar proses ekstraksi lebih efisien.

Selain polaritas, faktor lain yang memengaruhi keberhasilan ekstraksi adalah suhu, waktu, rasio pelarut terhadap sampel, serta teknik ekstraksi yang digunakan. Beberapa metode yang umum digunakan antara lain maserasi, sokhletasi, perkolasi, dan ekstraksi ultrasonik. Metode-metode tersebut memiliki kelebihan dan keterbatasan tergantung jenis bahan dan target senyawa (Azwanida, 2015).

Pelarut organik dipilih karena sifatnya yang lebih selektif dalam melarutkan metabolit sekunder dibandingkan air. Misalnya, senyawa fenolik dan flavonoid lebih banyak terekstraksi dalam pelarut semipolar, sedangkan triterpenoid lebih larut dalam pelarut nonpolar. Hal ini mendasari penggunaan etil asetat dan n-heksana dalam penelitian (Do *et al.*, 2014).

2.2.1. Karakteristik Pelarut Etil Asetat (Semipolar)

Etil asetat merupakan pelarut organik dengan tingkat polaritas menengah (semipolar). Pelarut ini banyak digunakan dalam ekstraksi karena mampu melarutkan senyawa dengan polaritas rendah hingga sedang seperti flavonoid aglikon, alkaloid tertentu, dan tanin sederhana (Wang & Weller, 2006). Selain itu, etil asetat relatif aman digunakan dibandingkan pelarut klorinasi.

Karakteristik fisik etil asetat adalah cairan jernih, mudah menguap, dengan bau khas menyerupai buah, serta titik didih sekitar 77°C. Sifat volatilnya memudahkan proses pemekatan ekstrak karena pelarut dapat diuapkan dengan cepat tanpa merusak senyawa aktif yang terkandung di dalamnya (Pavia *et al.*, 2014).

Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut partisi dalam metode ekstraksi cair-cair untuk memisahkan senyawa semipolar dari ekstrak kasar. Hal ini menjadikan etil asetat sebagai salah satu pelarut penting dalam fraksinasi metabolit sekunder tanaman (Sasidharan *et al.*, 2011). Selain itu, etil asetat dapat berperan dalam pemisahan bioaktif seperti flavonoid dan senyawa fenolik yang diketahui memiliki aktivitas biologis tinggi, termasuk antioksidan, antimikroba, dan antimalaria (Rout *et al.*, 2009). Oleh karena itu, pelarut ini sering dipilih dalam penelitian bioprospeksi.

2.2.2. Karakteristik Pelarut N-Heksana (Nonpolar)

N-heksana adalah pelarut nonpolar yang secara luas digunakan dalam mengekstraksi senyawa lipofilik seperti minyak esensial, lemak, dan sterol. Pelarut ini memiliki polaritas sangat rendah sehingga selektif terhadap senyawa hidrokarbon dan lipid (Stahl, 1988). Secara fisik, n-heksana merupakan cairan bening, mudah menguap, dengan titik didih sekitar 69°C. Pelarut ini relatif inert, yaitu tidak mudah bereaksi atau berinteraksi secara kimia dengan senyawa yang diekstraksi, sehingga mampu menjaga kestabilan metabolit lipofilik selama proses ekstraksi (Houghton & Raman, 1998).

Dalam fitokimia, n-heksana sering menjadi tahap awal dalam ekstraksi bertingkat. Ekstraksi dimulai dengan n-heksana untuk menghilangkan komponen nonpolar, kemudian dilanjutkan dengan pelarut semipolar atau polar untuk memperoleh senyawa lainnya. Hal ini meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya (Sasidharan *et al.*, 2011). Namun, karena sifatnya yang nonpolar, n-heksana tidak mampu melarutkan metabolit polar seperti flavonoid glikosida atau tanin. Keterbatasan ini menjadikan penggunaannya spesifik hanya pada golongan senyawa nonpolar (Wang & Weller, 2006).

2.2.3. Perbandingan Etil Asetat dan N-Heksana

Etil asetat dan n-heksana memiliki perbedaan utama pada tingkat polaritasnya, yang memengaruhi jenis senyawa yang dapat terekstraksi. Etil asetat bersifat semipolar sehingga mampu melarutkan senyawa semipolar seperti flavonoid aglikon, tanin sederhana, dan beberapa fenol (Mukhriani, 2014). Sebaliknya, n-heksana bersifat nonpolar dan lebih efektif melarutkan senyawa lipofilik seperti terpenoid, steroid, dan minyak atsiri (Stahl, 1988).

Perbedaan karakteristik tersebut berimplikasi pada mekanisme aktivitas biologisnya. Senyawa semipolar dalam ekstrak etil asetat umumnya berinteraksi dengan protein dan fosfolipid membran sel, sehingga dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menghambat aktivitas enzim tertentu (Do *et al.*, 2014). Di sisi lain, senyawa nonpolar dalam ekstrak n-heksana cenderung berpenetrasi melalui lapisan lipid kutikula dan terakumulasi pada jaringan kaya lipid, sehingga mengganggu stabilitas membran dan metabolisme sel (Sarker & Nahar, 2012).

Dalam konteks aktivitas larvasida, flavonoid dan tanin yang banyak terekstraksi dalam etil asetat berperan dalam menghambat sistem pencernaan dan menyebabkan gangguan fisiologis larva (Rout *et al.*, 2009). Sementara itu, terpenoid dan steroid yang dominan dalam ekstrak n-heksana bekerja melalui gangguan sistem saraf dan metabolisme energi (Raveen *et al.*, 2024). Dengan demikian, ekstrak etil asetat dan n-heksana menunjukkan karakteristik aktivitas yang berbeda sesuai dengan profil senyawa yang terkandung di dalamnya.

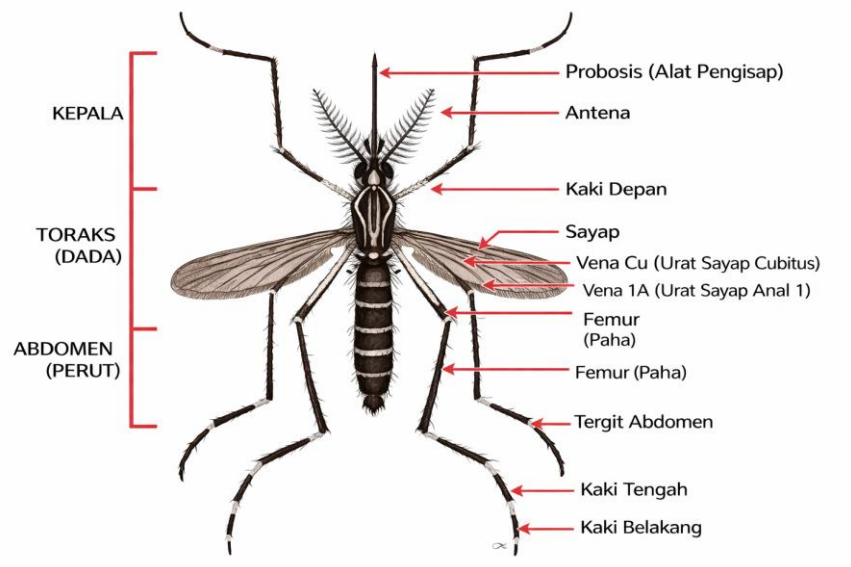
Perbedaan profil metabolit tersebut menunjukkan bahwa kedua pelarut bersifat komplementer dalam mengekstraksi senyawa bioaktif. Variasi polaritas pelarut memungkinkan diperolehnya spektrum metabolit sekunder yang lebih luas dan berpotensi memberikan efek biologis yang berbeda (Sasidharan *et al.*, 2011).

2.3. *Aedes aegypti*

2.3.1. Morfologi dan Klasifikasi

Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki ciri morfologis berupa tubuh berwarna hitam dengan belang putih pada kaki dan toraks, sehingga sering disebut sebagai nyamuk belang. Ukuran tubuhnya relatif kecil dengan panjang sekitar 4–7 mm dan memiliki probosis yang panjang

untuk mengisap darah. Antena nyamuk jantan berbulu lebat (plumose) yang berfungsi untuk mendeteksi frekuensi suara kepaan sayap betina, sedangkan antena betina lebih sederhana (pilose) dan berperan dalam mendeteksi rangsangan kimia serta bau inang (Kamal, 2020). Berikut adalah gambar morfologi luar nyamuk *Aedes aegypti* yang dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Morfologi Luar Nyamuk *Aedes aegypti* (Rueda, 2004).

Menurut Linnaeus (1762) taksonomi dari nyamuk *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut:

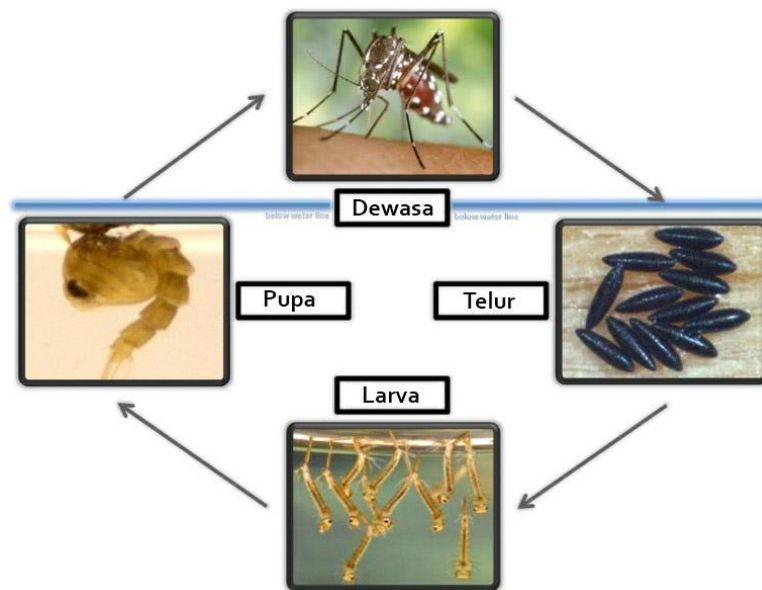
Kerajaan	: Animalia
Divisi	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Bangsa	: Diptera
Suku	: Culicidae
Marga	: <i>Aedes</i>
Jenis	: <i>Aedes aegypti</i>

2.3.2. Siklus Hidup

Siklus hidup *Aedes aegypti* terdiri dari empat tahap, yaitu telur, larva, pupa, dan dewasa. Telur biasanya diletakkan di dinding wadah berisi air bersih dan dapat bertahan kering selama beberapa bulan. Kondisi lingkungan seperti suhu, kelembapan, dan ketersediaan air berperan penting dalam keberlangsungan perkembangan siklus hidup nyamuk ini (Ahmad *et al.*, 2021).

Larva mengalami empat kali pergantian kulit (instar) sebelum berubah menjadi pupa. Stadium pupa berlangsung selama 1–3 hari, kemudian bermetamorfosis menjadi nyamuk dewasa. Waktu total dari telur hingga dewasa dapat berlangsung antara 7–10 hari tergantung kondisi lingkungan (Perez Castro *et al.*, 2020). Nyamuk betina dewasa umumnya lebih lama hidup dibandingkan jantan karena membutuhkan darah untuk perkembangan telurnya. Siklus hidup yang cepat serta adaptasi terhadap lingkungan perkotaan membuat *Aedes aegypti* menjadi salah satu vektor penyakit yang paling efisien di daerah tropis (Santos *et al.*, 2022). Berikut adalah gambar siklus hidup *Aedes aegypti* yang dapat dilihat pada

Gambar 3.



Gambar 3. Siklus Hidup *Aedes aegypti* (Villarreal, 2017).

2.3.3 Peran *Aedes aegypti* sebagai Vektor Demam Berdarah

Aedes aegypti merupakan vektor utama virus dengue penyebab Demam Berdarah Dengue (DBD). Penularan terjadi melalui gigitan nyamuk betina yang terinfeksi virus dengue ketika mengisap darah manusia. Setelah virus masuk ke tubuh nyamuk, diperlukan masa inkubasi ekstrinsik sekitar 8–12 hari sebelum nyamuk dapat menularkan virus ke inang berikutnya (Rueda, 2020). Nyamuk *Aedes aegypti* ini sangat adaptif terhadap lingkungan perkotaan, terutama di wilayah dengan sanitasi buruk dan banyak wadah penampung air bersih. Hal ini menjadikannya sebagai vektor yang berbahaya, karena kedekatannya dengan manusia meningkatkan risiko penularan (Mohammed *et al.*, 2021).

Selain menyebabkan penyakit dengue, *Aedes aegypti* juga diketahui berperan sebagai vektor penular penyakit lain seperti chikungunya, zika, dan yellow fever. Hal ini mempertegas statusnya sebagai salah satu spesies nyamuk yang paling signifikan secara medis di dunia (Wong *et al.*, 2022). Peningkatan mobilitas penduduk, urbanisasi,

dan perubahan iklim turut memperluas distribusi nyamuk ini, sehingga risiko penyebaran DBD dan penyakit arboviral lainnya semakin tinggi, khususnya di negara-negara tropis dan subtropis (Mendez *et al.*, 2023).

2.3.4 Strategi Pengendalian Komunitas Nyamuk

Strategi pengendalian *Aedes aegypti* dapat dilakukan melalui pendekatan kimiawi, biologis, dan nabati. Pendekatan kimiawi meliputi penggunaan insektisida sintetis seperti organofosfat, piretroid, dan karbamat yang diaplikasikan melalui penyemprotan ruang (thermal fogging atau ultra low volume/ULV) untuk membunuh nyamuk dewasa, serta melalui pemberian larvasida pada tempat penampungan air untuk mengendalikan stadium larva. Namun, efektivitas metode ini dapat menurun apabila tidak diintegrasikan dengan pengelolaan lingkungan, seperti pemberantasan sarang nyamuk (PSN), pengurasan dan penutupan tempat penampungan air, serta pengelolaan limbah yang berpotensi menjadi tempat perkembangbiakan (Rodriguez *et al.*, 2018).

Selain itu, metode biologis dilakukan dengan memanfaatkan musuh alami, seperti ikan pemakan jentik (*Poecilia reticulata*) dan bakteri *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) yang mampu membunuh larva nyamuk secara selektif tanpa menimbulkan pencemaran lingkungan (Sheila *et al.*, 2020). Sementara itu, pendekatan nabati semakin banyak dikembangkan karena dinilai lebih ramah lingkungan dan berpotensi menekan risiko resistensi. Berbagai ekstrak tumbuhan, seperti serai, daun nimba, temulawak, dan daun mangrove, dilaporkan memiliki aktivitas larvasida terhadap *Aedes aegypti* melalui kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid (Raveen *et al.*, 2024).

Integrasi ketiga pendekatan tersebut, disertai penerapan PSN secara konsisten, dianggap sebagai strategi pengendalian yang lebih efektif dan berkelanjutan dalam menurunkan populasi nyamuk serta mencegah penyebaran penyakit (Serdeiro *et al.*, 2023).

2.3.5 Masalah Resistensi Insektisida Sintetis

Penggunaan insektisida sintetis secara terus-menerus menimbulkan masalah resistensi pada populasi *Aedes aegypti*. Resistensi terjadi akibat tekanan seleksi, di mana individu yang tahan terhadap insektisida akan bertahan hidup dan berkembang biak, sehingga efektivitas insektisida menurun (Kamaraj *et al.*, 2019). Kasus resistensi terhadap berbagai golongan insektisida telah dilaporkan di banyak negara, termasuk resistensi terhadap piretroid yang merupakan insektisida utama dalam program pengendalian nyamuk (Moyes *et al.*, 2020). Resistensi ini dipengaruhi oleh mekanisme biokimia, seperti peningkatan aktivitas enzim detoksifikasi, mutasi pada saluran ion target, dan perubahan perilaku nyamuk dalam menghindari kontak dengan insektisida (Hernandez *et al.*, 2021). Masalah resistensi menegaskan perlunya pengembangan alternatif larvasida berbasis bahan alami, serta pendekatan manajemen resistensi insektisida yang melibatkan rotasi bahan kimia, kombinasi metode, dan monitoring resistensi secara berkala (Martins *et al.*, 2022).

2.4 Larvasida Nabati

2.4.1 Mekanisme Larvasida Nabati terhadap Serangga

Larvasida nabati bekerja melalui mekanisme yang melibatkan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Flavonoid diketahui mampu menghambat sistem enzim pencernaan serangga, menyebabkan gangguan metabolisme dan

mengurangi penyerapan nutrisi yang pada akhirnya memicu kematian larva (Kusumaningrum, 2020). Senyawa ini juga memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim asetilkolinesterase yang berperan dalam sistem saraf, sehingga dapat menyebabkan kelumpuhan pada larva (Rahmadani, 2022).

Tanin berfungsi sebagai antinutrisi dengan cara mengikat protein dan enzim pencernaan pada usus larva, sehingga menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian (Sari, 2021). Mekanisme kerja tanin yang bersifat astringent juga menyebabkan pengerutan dinding usus, mengurangi penyerapan makanan dan mempercepat mortalitas larva (Wardani, 2020). Alkaloid diketahui memiliki sifat neurotoksik yang dapat mengganggu transduksi sinyal saraf pada serangga (Lestari, 2023). Senyawa ini menyebabkan larva kehilangan kemampuan bergerak, menghambat pergantian kulit (*molting*), dan pada akhirnya mati (Widodo, 2021).

Terpenoid berperan sebagai penghambat hormon ecdison yang mengatur pergantian kulit dan metamorfosis serangga (Putri, 2022). Hambatan pada jalur hormonal ini mengakibatkan larva gagal berkembang menjadi pupa dan akhirnya mengalami kematian (Hidayati, 2020). Dengan demikian, kombinasi metabolit sekunder pada ekstrak tumbuhan dapat memberikan efek larvasida yang sinergis.

2.4.2 Efek Fisiologis dan Morfologis pada Larva Nyamuk (*Aedes aegypti*)

Paparan larvasida nabati menyebabkan gangguan fisiologis pada larva *Aedes aegypti* seperti penurunan aktivitas makan, perubahan perilaku berenang, dan imobilitas (Mulyani, 2021). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh terhadap sistem saraf dan pencernaan. Secara morfologis, larva yang terpapar mengalami

kerusakan pada kutikula, penyusutan tubuh, serta perubahan warna menjadi lebih gelap atau pucat akibat dehidrasi dan rusaknya sel epitel (Pratama, 2022). Pada konsentrasi tinggi, terjadi ruptur (pecahnya) integumen yang menyebabkan cairan tubuh keluar sehingga larva mati (Nugraha, 2020).

Selain itu, organ-organ internal seperti usus tengah mengalami disintegrasi sel dan vakuolisasi, yang menunjukkan kerusakan sel epitel akibat efek sitotoksik senyawa aktif (Setiawan, 2023). Efek ini mempercepat kematian larva karena gangguan penyerapan nutrisi dan kerusakan fisiologis. Kerusakan juga tampak pada siphon (alat pernapasan larva), yang menjadi lebih pendek atau mengalami penyempitan sehingga menghambat pernapasan larva (Yuliani, 2021). Perubahan-perubahan ini dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk konfirmasi histopatologi atau *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk konfirmasi morfologi.

2.4.3 Indikator Kerusakan Larva

Indikator utama keberhasilan uji larvasida adalah mortalitas larva, yang dinyatakan dalam persentase kematian setelah periode paparan tertentu, biasanya 24–48 jam (Siregar, 2020). Mortalitas yang meningkat seiring konsentrasi menunjukkan efektivitas senyawa larvasida (Handayani, 2021). Selain mortalitas, perubahan perilaku larva seperti berenang lambat, gerakan spasmodik, atau tidak responsif terhadap rangsangan digunakan sebagai parameter bioindikator (Fauziah, 2023). Hal ini mengindikasikan gangguan sistem saraf akibat paparan senyawa aktif.

Perubahan jaringan larva dapat dianalisis melalui pewarnaan histopatologi Hematoxylin Eosin (HE), yang memperlihatkan nekrosis sel, disintegrasi epitel, dan hilangnya integritas jaringan usus tengah (Wulandari, 2021). Pemeriksaan *Scanning Electron*

Microscope (SEM) juga dapat memperlihatkan kerusakan pada permukaan kutikula seperti retakan dan deformasi (Rahmawati, 2022). Dengan kombinasi indikator mortalitas, perilaku, dan kerusakan jaringan, efektivitas larvasida nabati dapat dinilai secara komprehensif sehingga mendukung rekomendasi penggunaannya sebagai agen pengendali vektor ramah lingkungan (Santoso, 2020).

2.5 Analisis Morfologi Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

2.5.1 Prinsip Dasar dan Cara Kerja *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) merupakan instrumen mikroskopi yang menggunakan berkas elektron berenergi tinggi untuk memindai permukaan sampel sehingga menghasilkan citra dengan resolusi tinggi. Prinsip dasar *Scanning Electron Microscope* (SEM) didasarkan pada interaksi elektron dengan atom pada permukaan sampel yang memunculkan sinyal sekunder seperti elektron sekunder, elektron pantul, dan sinar-X yang kemudian dikonversi menjadi gambar digital (Goldstein, 2018). Elektron ditembakkan melalui *electron gun* kemudian difokuskan menggunakan lensa elektromagnetik hingga mengenai sampel dengan ketelitian tinggi (Reimer, 2017).

Sampel yang akan diamati harus terlebih dahulu dipersiapkan melalui proses dehidrasi, pelapisan konduktif (misalnya emas atau paladium), dan pengaturan vakum untuk menghindari hamburan elektron oleh udara (Hernandez, 2021). *Scanning Electron Microscope* (SEM) bekerja pada tekanan rendah dengan kolom elektron yang dipertahankan dalam kondisi vakum tinggi untuk menjaga aliran elektron tetap stabil (Lopes, 2020).

Setelah berkas elektron mengenai permukaan sampel, terjadi pelepasan elektron sekunder yang ditangkap oleh detektor dan diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal ini diproses menjadi citra dengan kedalaman bidang dan perbesaran yang jauh lebih tinggi dibandingkan mikroskop cahaya konvensional (Zhang, 2022). Dengan kemampuan menghasilkan citra tiga dimensi semu (pseudo-3D), *Scanning Electron Microscope* (SEM) memungkinkan pengamat mempelajari struktur topografi permukaan, bentuk, ukuran, dan pola morfologi mikroskopis secara detail. Teknik ini sangat relevan dalam penelitian entomologi, khususnya untuk melihat perubahan ultrastruktur larva setelah paparan senyawa bioaktif (Matsumoto, 2023).

2.5.2 Keunggulan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dalam Analisis Ultrastruktur Larva Serangga

Scanning Electron Microscope (SEM) memiliki keunggulan dalam memberikan resolusi yang tinggi hingga skala nanometer sehingga mampu memperlihatkan detail morfologi permukaan serangga yang tidak dapat diobservasi menggunakan mikroskop cahaya (Kumar, 2020). Kedalaman fokus yang besar memungkinkan pengamatan bagian tubuh serangga yang memiliki permukaan tidak rata tetap terlihat jelas secara keseluruhan (Singh, 2019).

Selain itu, *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat digunakan untuk memvisualisasikan struktur sensila, spirakel, dan kutikula larva secara lebih presisi sehingga mempermudah identifikasi kerusakan akibat paparan senyawa larvasida (Sari, 2021). Gambar yang dihasilkan memiliki kontras tinggi dan detail tajam, mendukung analisis morfologi secara kualitatif maupun semikuantitatif (Rahman, 2020). Teknik ini juga mampu mendeteksi perbedaan tekstur dan topografi permukaan tubuh larva, termasuk kerusakan pada integumen, perubahan bentuk rambut sensori, hingga

distorsi organ mulut (Ghosh, *et al.*, 2022). Hal ini penting untuk memahami mekanisme aksi senyawa bioaktif yang bekerja secara kontak terhadap larva serangga.

Keunggulan lain dari *Scanning Electron Microscope* (SEM) adalah kemampuannya untuk menghasilkan dokumentasi visual yang dapat dibandingkan antara perlakuan dan kontrol, sehingga membantu peneliti dalam mengidentifikasi tingkat kerusakan morfologis yang diinduksi oleh perlakuan tertentu (Lukman, 2023).

2.5.3 Perubahan Morfologi Permukaan Larva Setelah Paparan Ekstrak Nabati

Paparan senyawa bioaktif dari ekstrak nabati seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tanin sering menyebabkan perubahan struktural pada integumen larva, yang dapat diamati dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Efek yang sering dilaporkan meliputi kerusakan kutikula, kerutan pada permukaan tubuh, pecahnya dinding integumen, dan deformasi spirakel (Abdullah, 2020). Perubahan pada sensila mekanoreseptor dan chemoreseptor juga terlihat setelah larva terpapar senyawa fitotoksik, yang dapat memengaruhi kemampuan larva dalam mencari makan atau bernapas (Mendes, 2019). Dalam beberapa kasus, *Scanning Electron Microscope* (SEM) mengungkapkan adanya distorsi pada struktur kepala, pergerakan mulut yang terhambat, serta pembengkakan pada segmen abdomen (Raveen *et al.*, 2024).

Kerusakan integumen yang diidentifikasi melalui *Scanning Electron Microscope* (SEM) biasanya berhubungan dengan meningkatnya permeabilitas membran sel, yang pada akhirnya menyebabkan kehilangan cairan tubuh dan kematian larva (Ali, 2021). Efek ini bersifat konsisten pada berbagai jenis larvasida nabati, menunjukkan bahwa kerusakan morfologi merupakan salah satu mekanisme

kematian larva. Selain itu, pemindaian *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat memperlihatkan perubahan tekstur permukaan yang sebelumnya halus menjadi berlekuk-lekuk atau terkelupas, menandakan adanya degradasi lapisan kutikula akibat sifat toksik ekstrak tanaman (Serdeiro *et al.*, 2023).

2.6 Histopatologi Larva *Aedes aegypti*

2.6.1 Konsep Histopatologi pada Jaringan Serangga

Histopatologi merupakan cabang ilmu patologi yang mempelajari perubahan struktural jaringan akibat pengaruh faktor internal maupun eksternal, termasuk paparan bahan toksik atau agen biologis (Kumawat, 2021). Dalam penelitian entomologi, analisis histopatologi digunakan untuk mengamati kerusakan jaringan pada serangga akibat paparan insektisida atau larvasida, baik sintetis maupun alami (Hussain *et al.*, 2022). Studi ini penting karena memungkinkan peneliti memahami mekanisme kematian larva secara lebih spesifik pada tingkat jaringan, tidak hanya berdasarkan mortalitas.

Pada larva *Aedes aegypti*, histopatologi umumnya difokuskan pada organ pencernaan (usus tengah dan usus belakang), sistem otot, kutikula, serta jaringan lemak karena organ-organ ini paling rentan terhadap senyawa bioaktif yang bersifat toksik (Raveen *et al.*, 2024). Dengan mengamati perubahan histologis, peneliti dapat menentukan apakah kerusakan bersifat nekrosis, degenerasi, atau apoptosis pada jaringan tertentu (Mello *et al.*, 2020).

Selain itu, histopatologi membantu mengidentifikasi organ target dari suatu larvasida. Misalnya, senyawa dengan sifat larvasidal biasanya menyebabkan kerusakan epitel usus yang berperan dalam pencernaan dan absorpsi nutrisi (Pratiwi, 2023). Identifikasi pola

kerusakan dapat mengarahkan formulasi larvasida yang lebih efektif dan selektif.

Histopatologi juga berperan dalam mengevaluasi efek subletal larvasida nabati. Larva yang tidak mati namun mengalami kerusakan jaringan mungkin akan mengalami gangguan pertumbuhan, metamorfosis, atau fertilitas pada fase dewasa, yang turut menekan populasi nyamuk vektor (Serdeiro *et al.*, 2023).

2.6.2 Prinsip Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada Larva

Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) adalah metode standar untuk mengamati morfologi jaringan pada preparat histologi (Suvarna *et al.*, 2018). Hematoxylin mewarnai inti sel berwarna biru keunguan karena afinitasnya terhadap asam nukleat, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma dan protein ekstraseluler dengan warna merah muda (Fischer *et al.*, 2020). Kombinasi pewarnaan ini menghasilkan kontras yang baik sehingga struktur jaringan lebih mudah dianalisis.

Dalam studi pada larva serangga, pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) digunakan untuk mengamati integritas epitel usus, ketebalan kutikula, dan susunan jaringan otot (Ravi *et al.*, 2021). Preparasi jaringan dilakukan melalui proses fiksasi (biasanya dengan formalin netral 10%), dehidrasi bertingkat dengan etanol, clearing menggunakan xilol, kemudian embedding dalam parafin sebelum dilakukan irisan tipis (3–5 µm) dan diwarnai (Bancroft dan Gamble, 2019).

Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) juga bermanfaat untuk membedakan antara jaringan yang mengalami degenerasi dan jaringan yang masih sehat. Misalnya, nekrosis epitel usus dapat terlihat dari sitoplasma yang mengalami piknosis dan fragmentasi inti (Kumar *et al.*, 2021). Dengan demikian, pewarnaan Hematoxylin

Eosin (HE) menjadi pilihan utama untuk analisis histopatologi larva *Aedes aegypti* karena praktis, ekonomis, dan memberikan informasi detail mengenai kerusakan jaringan akibat paparan larvasida nabati (Pratiwi, 2023).

2.6.3 Indikasi Kerusakan Jaringan Setelah Paparan Larvasida Nabati

Paparan larvasida nabati dapat menyebabkan berbagai kerusakan jaringan yang dapat diamati secara histopatologis. Salah satu indikasi yang paling sering dilaporkan adalah disorganisasi epitel usus tengah, berupa vakuolisasi sitoplasma, deskuamasi, dan ruptur dinding usus (Hidayat *et al.*, 2022). Kerusakan ini menghambat penyerapan nutrisi, menyebabkan larva mengalami kelaparan dan akhirnya mati. Selain itu, banyak larvasida nabati yang menyebabkan degenerasi jaringan lemak, sehingga cadangan energi larva menurun drastis (Mello *et al.*, 2020). Beberapa senyawa seperti flavonoid dan terpenoid diketahui dapat menembus kutikula larva dan memicu stres oksidatif, yang mengarah pada apoptosis sel-sel epitel (Raveen *et al.*, 2024).

Kerusakan jaringan otot juga dapat diamati melalui fragmentasi serat otot dan hilangnya struktur miofibril (Serdeiro *et al.*, 2023). Hal ini menyebabkan larva menjadi lemah, kehilangan kemampuan berenang normal, dan akhirnya tenggelam. Indikasi lain yang dapat ditemukan adalah kerusakan kelenjar pencernaan dan gangguan pada peritrofik membran yang melapisi usus tengah, yang memperburuk gangguan pencernaan dan membuat larva lebih rentan terhadap infeksi mikroba sekunder (Hussain *et al.*, 2022).

2.6.4 Perubahan Struktur Jaringan Usus, Kutikula, Otot, dan Organ Penting Larva

Perubahan pada usus tengah merupakan temuan utama dalam studi histopatologi larva. Epitel kolumnar sering kali mengalami hipertrofi, vakuolisasi, dan deskuamasi sehingga lumen usus dipenuhi debris seluler (Ravi *et al.*, 2021). Gangguan ini menyebabkan pencernaan terganggu, menghambat metamorfosis. Kutikula, sebagai penghalang utama terhadap agen eksternal, dapat mengalami penipisan atau keretakan setelah paparan senyawa nabati, terutama yang bersifat lipofilik seperti n-heksana ekstrak (Pratiwi, 2023). Hal ini memudahkan penetrasi senyawa aktif dan mempercepat efek toksik.

Otot longitudinal dan melingkar pada larva menunjukkan disintegrasi serat, edema, dan fragmentasi miofibril, yang mengakibatkan gangguan motilitas (Hidayat *et al.*, 2022). Kondisi ini selanjutnya memperburuk kemampuan larva mencari makanan. Organ penting lainnya seperti kelenjar pencernaan, jaringan lemak, dan sistem trakea juga dapat terpengaruh. Degenerasi jaringan lemak menyebabkan berkurangnya cadangan energi, sedangkan kerusakan trakea mengganggu pernapasan larva (Mello *et al.*, 2020). Semua perubahan ini berkontribusi pada mortalitas larva dan mengurangi potensi vektor *Aedes aegypti*.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Agustus – Desember 2025. Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Zoologi I, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Uji aktivitas larvasida dilakukan di Laboratorium Zoologi I, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pengamatan morfologi larva *Aedes aegypti* instar III dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dilakukan di Laboratorium Riset, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung (UIN RIL). Pengamatan histopatologi larva *Aedes aegypti* instar III dengan mikroskop cahaya dan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Patologi, Balai Veteriner Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Beaker glass, aluminium foil, batang pengaduk, kertas saring, kertas wrap, corong, labu erlenmeyer, gelas ukur, polybag, toples kaca, toples plastik, tabung plastik, timbangan analitik, timbangan biasa, spatula, kertas label, tabung reaksi, rak tabung, *thinwall*,

rotary evaporator, Scanning Electron Microscope (SEM), hotplate, stub aluminium, spesimen stub, perekat karbon, pinset, pipet tetes, kulkas, fumehood, saringan kecil, inkubator, mikrotom, sputter coater, waterbath, cetakan embedding (mould), object glass, cover glass, dan Mikroskop Cahaya.

3.2.2 Bahan

Daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) diambil di sekitar Pantai Gatot Mangrove, Desa Sanggi, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etil asetat dan n-heksana. Telur larva *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Kesehatan, Sekolah Kedokteran dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor. Bahan-bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia yaitu akuades, asam klorida (p)/ HCl, asam sulfat (p)/ H₂SO₄, FeCl₃ (Besi III chlorida) 10%, asam asetat glacial, reagen Mayer, kristal magnesium.

Bahan yang digunakan untuk preparasi *Scanning Electron Microscope* (SEM) yaitu akuades steril, larutan glutaraldehid 2,5% dalam buffer fosfat 0,1 M (pH 7,2), etanol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96%, dan 100%), silika gel, dan emas (Au). Bahan yang digunakan dalam uji histopatologi yaitu akuades steril, larutan formalin buffer 10%, etanol (30%, 50%, 70%, 96%, 100%), alkohol absolut, toluena (xylol), paraffin cair, dan Hematoxylin Eosin (HE).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas dalam penelitian ini terdiri atas dua faktor, yaitu jenis ekstrak (ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*) serta konsentrasi ekstrak etil asetat

dan n-heksana *Rhizophora apiculata* (0,5%; 0,75%; 1%; 1,25%; dan akuades sebagai kontrol). Penentuan konsentrasi perlakuan berdasarkan pada metode Afifah (2024). Variabel terikat meliputi mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III, serta perubahan morfologi dan histopatologi larva. Pengamatan morfologi larva menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan histopatologi jaringan usus tengah larva menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dilakukan untuk mendeskripsikan perubahan struktur larva pada masing-masing perlakuan.

Setiap level perlakuan diulang lima kali dan setiap ulangan menggunakan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III dalam volume larutan uji 100 mL. Pengamatan mortalitas dilakukan setelah 24 jam perlakuan sesuai acuan WHO (2005). Larva *Aedes aegypti* instar III yang mati dari tiap perlakuan dipilih untuk pengamatan morfologi permukaan tubuh menggunakan SEM dan pengamatan histopatologi dengan pewarnaan HE yang diamati di bawah mikroskop cahaya untuk melihat kerusakan jaringan internal. Perlakuan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* terhadap larva *Aedes aegypti* Instar III dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perlakuan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana *Rhizophora apiculata* Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III

Jenis Ekstrak	Kode Perlakuan	Konsentrasi
Etil Asetat	PEA1	0%
Etil Asetat	PEA2	0,5%
Etil Asetat	PEA3	0,75%
Etil Asetat	PEA4	1%
Etil Asetat	PEA5	1,25%
N-Heksana	PNH1	0%
N-Heksana	PNH2	0,5%
N-Heksana	PNH3	0,75%
N-Heksana	PNH4	1%
N-Heksana	PNH5	1,25%

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Sampel

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah *Rhizophora apiculata* sebanyak 10 kg yang diperoleh dari sekitar Pantai Gatot Mangrove, Desa Sanggi, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Daun *Rhizophora apiculata* dipilih yang segar dan sehat (tidak rusak atau busuk) dengan tepian berwarna hijau (Bandiola, 2018). Selanjutnya, sampel tumbuhan diidentifikasi di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.4.2 Pembuatan Simplisia

Rhizophora apiculata dibersihkan dari kotoran yang melekat dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian *Rhizophora apiculata* ditiriskan. Selanjutnya, *Rhizophora apiculata* dikeringanginkan di tempat teduh yang tidak terkena sinar matahari langsung untuk mencegah degradasi senyawa aktif akibat paparan panas berlebih (Sapitri *et al.*, 2021). Setelah kering sempurna, *Rhizophora apiculata* diblender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk simplisia kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik atau kaca tertutup rapat untuk menghindari pengaruh kelembapan dan kontaminasi seperti debu atau mikroorganisme lain (Sofianna *et al.*, 2023).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak *Rhizophora apiculata*

Menurut Handayani, dkk. (2021), pembuatan ekstrak *Rhizophora apiculata* sebagai berikut.

1. Ekstrak Etil Asetat *Rhizophora apiculata*

Sejumlah 500 gram serbuk simplisia kering diekstraksi dengan 5000 mL etil asetat (perbandingan 1 : 10) dengan metode maserasi selama 7 hari pada suhu ruang agar maserat yang dihasilkan lebih optimal dalam menarik senyawa metabolit sekunder dari jaringan tumbuhan yang diteliti, kemudian disaring. Selanjutnya, hasil maserasi yang telah disaring diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Wasihun *et al.*, 2023).

2. Ekstrak N-Heksana *Rhizophora apiculata*

Sejumlah 500 gram serbuk simplisia kering diekstraksi dengan 5000 mL n-heksana (perbandingan 1 : 10) dengan metode maserasi selama 7 hari pada suhu ruang agar maserat yang dihasilkan lebih optimal dalam menarik senyawa metabolit sekunder dari jaringan tumbuhan yang diteliti, kemudian disaring. Selanjutnya, hasil maserasi yang telah disaring diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Wasihun *et al.*, 2023).

3.4.4 Pembuatan Kosenstrasi Ekstrak *Rhizophora apiculata*

Perhitungan konsentrasi ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana *Rhizophora apiculata* menggunakan rumus yaitu:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

M_1 : 100% Ekstrak murni (gr)

V_1 : Berat ekstrak yang dibutuhkan (gr)

M_2 : konsentrasi yang diinginkan (0,5%, 0,75%, 1%, dan 1,25%)

V_2 : volume akhir larutan uji (100 mL)

Pembuatan larutan perlakuan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* sebagai larutan uji aktivitas larvasida disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Pembuatan Larutan Perlakuan Ekstrak Etil Asetat dan N-Heksana *Rhizophora apiculata* Sebagai Larutan Uji Aktivitas Larvasida

Konsentrasi (M ₂)	Berat Ekstrak (V ₁)	Volume Akuades	Volume Akhir (V ₂)
0%	0 gram	100 mL	100 mL
0,5%	0,5 gram	99,5 mL	100 mL
0,75%	0,75 gram	99,25 mL	100 mL
1%	1 gram	99,0 mL	100 mL
1,25%	1, 25 gram	98,75 mL	100 mL

3.4.5 Uji Fitokimia Metabolit Sekunder

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* meliputi pemeriksaan saponin, steroid, terpenoid, tanin, alkaloid dan flavonoid.

a. Pemeriksaan Saponin

Larutan uji sebanyak 0,5 mL dimasukkan, ke dalam tabung reaksi ditambah 5 mL aquades kemudian dikocok selama 30 detik, hasil positif jika terdapat busa. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCL (asam chlorida) 2N, busa tidak hilang (Kartikasari dkk., 2022).

b. Pemeriksaan steroid dan terpenoid

Larutan uji sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi di tambah 0,5 mL asam asetat glacial lalu ditambah 0,5 mL asam sulfat. Positif adanya steroid jika larutan menjadi warna biru atau ungu. Positif terpenoid jika larutan merah atau kuning (Kartikasari dkk., 2022).

c. Pemeriksaan Tanin

Larutan uji sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 3 tetes larutan besi (III) klorida (FeCl₃) 10%. Positif

tanin jika larutan berwarna hitam kebiruan (Kartikasari dkk., 2022).

d. Pemeriksaan alkaloid

Larutan uji sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 5 tetes kloroform ditambah 5 tetes pereaksi Mayer (1 g KI dilarutkan dalam 20 mL aquades, ditambahkan 0,271 g HgCL₂ hingga larut). Positif jika warna larutan hitam kebiruan (Kartikasari dkk., 2022).

e. Pemeriksaan Flavonoid

Larutan uji sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 g serbuk magnesium (Mg) ditambah HCl pekat (tetes demi tetes). Positif flavonoid jika larutan berwarna merah atau kuning dan terdapat busa (Kartikasari dkk., 2022).

3.4.6 Pengamatan Aktivitas Larvasida

Uji aktivitas larvasida dilakukan menggunakan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*. Setiap konsentrasi larutan uji, yaitu 0,5%, 0,75%, 1%, 1,25%, dan akuades sebagai kontrol, dituangkan 100 mL ke dalam wadah plastik kapasitas 200 mL dan diberi label sesuai perlakuan. Sebanyak 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III dimasukkan ke setiap wadah yang telah diberi label. Mortalitas larva diamati setelah 24 jam perlakuan dengan ciri larva tenggelam dan tidak merespons rangsangan. Percobaan diulang lima kali dan dilakukan pada suhu ruang untuk memperoleh hasil maksimal (Afifah, 2024).

Menurut WHO (2005) pengumpulan data dilakukan dengan menghitung jumlah rata-rata dan persentase mortalitas larva sebagai berikut:

$$M = \frac{M_1}{M_0} \times 100\%$$

Keterangan:

M : Mortalitas larva nyamuk

M₁ : Jumlah larva mati

M₀ : Jumlah larva uji

Mortalitas larva diamati dengan melihat ciri-ciri seperti tenggelamnya larva yang mati ke dasar kontainer, tidak bergerak dan tidak memiliki respon terhadap rangsang yang kita berikan (Manilal *et al.*, 2011).

3.4.7 Pengamatan Morfologi Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Pengamatan morfologi larva *Aedes aegypti* instar III setelah perlakuan dengan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* dilakukan untuk mengidentifikasi perubahan struktur morfologi akibat paparan senyawa bioaktif hasil uji larvasida.

Larva dari perlakuan diambil setelah 24 jam perlakuan. Sampel larva dibersihkan dengan akuades steril untuk menghilangkan sisa larutan ekstrak, kemudian difiksasi primer menggunakan larutan glutaraldehida 2,5% dalam buffer fosfat 0,1 M (pH 7,2) selama 24 jam pada suhu 4°C (Zhang *et al.*, 2020).

Tahap selanjutnya adalah dehidrasi bertahap menggunakan seri etanol (30%, 50%, 70%, 96%, dan 100%), masing-masing selama 30 menit. Sampel larva kemudian dikeringkan menggunakan silika gel untuk mencegah kerusakan struktur akibat tegangan

permukaan. Setelah kering, larva diletakkan pada stub aluminium menggunakan perekat karbon, kemudian dilapisi emas dengan ketebalan ± 45 nm menggunakan *sputter coater* untuk meningkatkan konduktivitas permukaan (Zhang *et al.*, 2020).

Pengamatan morfologi larva dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) tipe Phenom ProX dari Thermo Scientific pada voltase percepatan 0 – 30 kV. Bagian morfologi yang diamati struktur eksternal larva antara lain kepala, toraks, abdomen, dan papila anal. Data morfologi larva hasil perlakuan dibandingkan dengan kontrol untuk mengidentifikasi adanya kerusakan atau aberasi struktural, seperti perubahan bentuk, kerusakan kutikula, keretakan permukaan, atau deformasi organ eksternal.

3.4.8 Pengamatan Histopatologi Menggunakan Mikroskop Cahaya Perbesaran 400 (40 x 10)

Pengamatan histopatologi jaringan usus tengah larva *Aedes aegypti* instar III setelah perlakuan dengan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* dilakukan untuk mengidentifikasi perubahan struktur jaringan internal akibat paparan senyawa bioaktif hasil uji larvasida.

Larva dari perlakuan diambil setelah 24 jam perlakuan. Larva dibersihkan dengan akuades steril untuk menghilangkan sisa ekstrak, kemudian dilakukan fiksasi primer menggunakan formalin buffer 10% selama 24 jam pada suhu ruang (Ragavendran *et al.*, 2019).

Setelah fiksasi, larva dibilas dengan akuades, lalu melalui proses dehidrasi bertingkat menggunakan etanol dengan konsentrasi 30%, 50%, 70%, 96%, dan 100%, masing-masing selama 30 menit.

Selanjutnya dilakukan penjernihan (*clearing*) menggunakan toluen (xylol) hingga jaringan menjadi transparan. Tahap berikutnya adalah penyisipan (*embedding*) dalam parafin cair pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ hingga parafin meresap sempurna ke dalam jaringan. Setelah mengeras, blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4–5 μm . Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang telah dilapisi perekat (adhesive slide) (Ragavendran *et al.*, 2019).

Pewarnaan dilakukan dengan metode Hematoxylin Eosin (HE) mengacu pada metode yang telah diterapkan oleh Adrianto *et al.*, (2023). Pewarnaan hematoxylin digunakan untuk menonjolkan inti sel, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma dan komponen ekstraseluler. Setelah diwarnai, preparat ditutup dengan *cover glass* menggunakan mounting medium. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 (40x10) untuk menilai kondisi histologis jaringan, dengan fokus pengamatan pada usus tengah. Bagian yang diamati adalah bagian usus tengah.

Hasil pengamatan perlakuan dibandingkan dengan kontrol untuk menilai tingkat kerusakan jaringan yang diinduksi oleh senyawa bioaktif ekstrak *Rhizophora apiculata*. Metode ini memberikan gambaran detail kerusakan jaringan yang tidak terlihat dengan pengamatan morfologi eksternal.

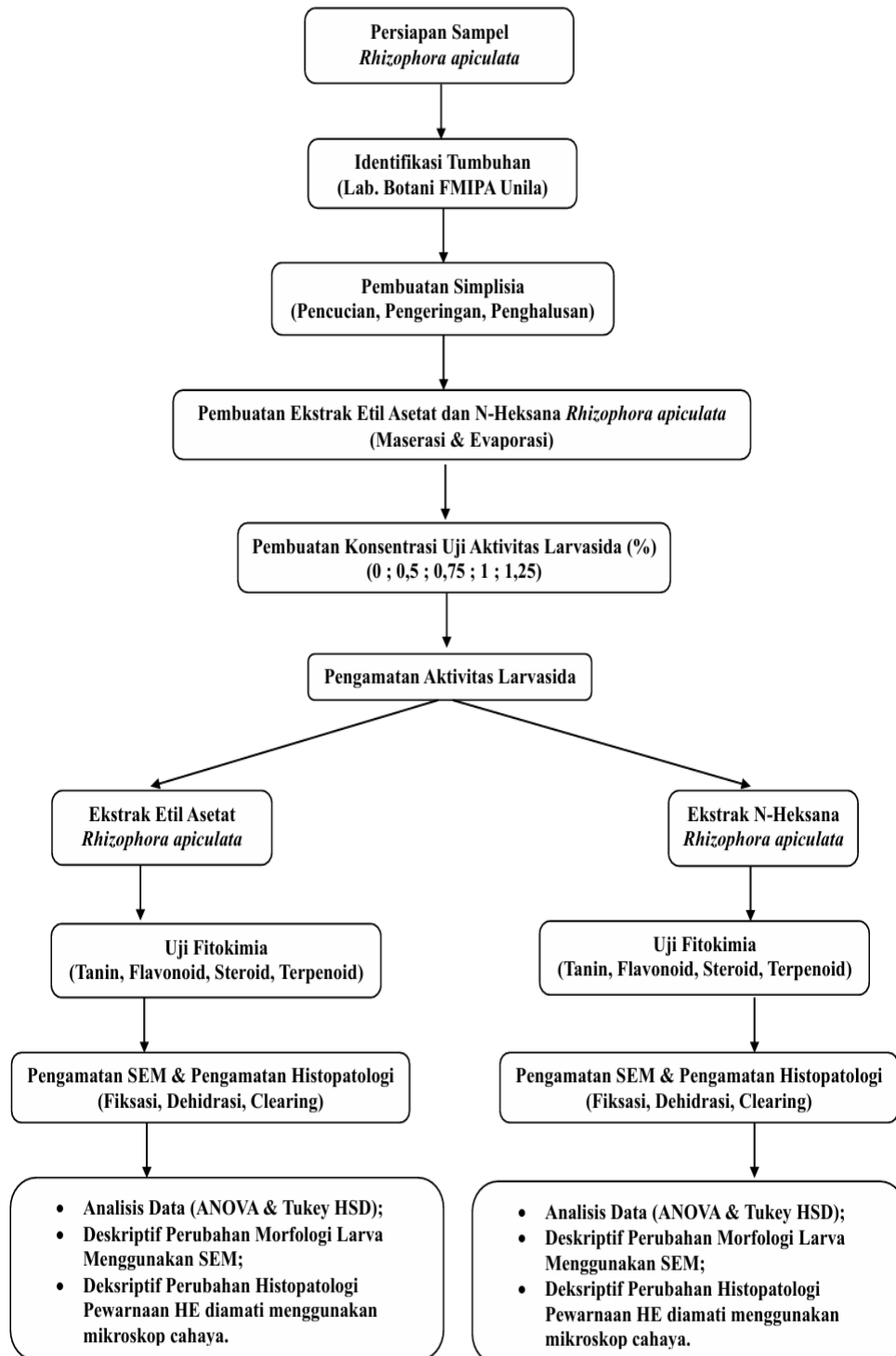
3.5 Analisis Data

Data kematian larva *Aedes aegypti* instar III setelah 24 jam paparan ekstrak etil asetat atau n-heksana *Rhizophora apiculata* dianalisis secara kuantitatif dengan menghitung persentase kematian larva berdasarkan perbandingan jumlah larva mati dan jumlah total larva pada setiap perlakuan. Data mortalitas larva dianalisis menggunakan analisis varian dua arah (*Two-Way ANOVA*). Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilakukan uji lanjut *Tukey Honestly Significant Difference* (Tukey HSD) untuk mengetahui perbedaan mortalitas larva antar perlakuan secara lebih rinci. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 26 dengan tingkat kepercayaan 95%.

Data hasil pengamatan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan perubahan morfologi eksternal larva pada perlakuan dengan kontrol. Perubahan yang diamati meliputi deformasi pada bagian kepala, toraks, abdomen, dan papila anal. Data hasil pengamatan uji histopatologi usus tengah menggunakan mikroskop cahaya dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan struktur jaringan usus tengah larva pada perlakuan dengan kontrol.

3.6 Bagan Alir Penelitian

Bagan alir penelitian dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Bagan Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan tingkat mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III setelah paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata*, di mana ekstrak etil asetat menunjukkan tingkat mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana pada setiap konsentrasi perlakuan.
2. Paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* menyebabkan perubahan morfologi larva *Aedes aegypti* instar III berdasarkan analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM), yang ditandai dengan deformasi pada kepala, toraks, abdomen, dan papila anal. Tingkat kerusakan morfologi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.
3. Paparan ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* menyebabkan perubahan histopatologi jaringan usus tengah larva *Aedes aegypti* instar III berdasarkan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), yang ditandai dengan disorganisasi sel epitel dan gangguan struktur lumen usus, dengan tingkat kerusakan jaringan yang semakin meningkat pada konsentrasi yang lebih tinggi.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas larvasida ekstrak etil asetat dan n-heksana *Rhizophora apiculata* pada spesies nyamuk vektor lain untuk mengetahui spektrum aktivitasnya.
2. Penelitian selanjutnya disarankan menambahkan kontrol positif sebagai pembanding.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. (2020). Ultrastructural changes in mosquito larvae exposed to plant extracts. *Journal of Vector Ecology*, 45(2), 134-141.
- Abeyasinghe, P. D. (2010). Antibacterial activity of some medicinal mangroves against antibiotic resistant pathogenic bacteria. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2), 167–172.
- Achee, N.L., Gould, F., Perkins, T.A., Reiner, R.C., Morrison, A.C., Ritchie, S.A., Gubler, D.J., Teyssou, R., Scott, T.W. (2019). A critical assessment of vector control for dengue prevention. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(5): e0007555.
- Adrianto, D., & Baskar, R. (2023). Larvicidal and histopathological effects of mangrove leaf extracts on *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology*, 48(1), 45–54.
- Afifah, D. D. (2024). *Efektivitas larvasida ekstrak etanol rumput laut Sargassum polycystum terhadap larva nyamuk Aedes aegypti instar III*. Skripsi. Universitas Lampung.
- Ahmad, N., Singh, R., & Khan, A. (2021). Environmental factors affecting the life cycle of *Aedes aegypti*. *International Journal of Entomology Research*, 9(3), 25–32.
- Ali, R. (2021). Larvicidal mechanism of plant-based compounds against *Aedes aegypti*: SEM study. *Entomological Research*, 51(3), 287-295.
- Alongi, D. M. (2012). Carbon sequestration in mangrove forests. *Carbon Management*, 3(3), 313–322.
- Amaliyah, S., Sucipto, H., & Purnobasuki, H. (2017). *Roots Morphology of Rhizophora apiculata Blume as an Adaptation Strategy of Waterlogging and Sediment*. *Journal of Biological Sciences*, 17(3), 118–126

- Anggraini, D., Puspa, M., & Susilowati, R. P. (2022). Perubahan histopatologis sel epitel midgut larva nyamuk *Aedes aegypti* akibat paparan insektisida nabati. *Jurnal MedScientiae*, 1(1), 20–27.
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 1–6.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2019). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Elsevier Health Sciences.
- Bandaranayake, W. M. (2002). Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes*, 2(3), 133–148.
- Bandiola, T. M. B. (2018). Extraction and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants: A Brief Summary. *International Journal of Pharmacy*.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J., & Kaiser, A. (2010). *Mosquitoes and their control* (2nd ed.). Springer.
- Benelli, G., & Pavela, R. (2018). Beyond mosquitoes—Essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. *Industrial Crops and Products*, 117, 382–392.
- Chandra, G., Bhattacharjee, I., Chatterjee, S. N., & Ghosh, A. (2016). Mosquito larvicidal activities of some plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(1), 15–22.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. Columbia University Press: New York.
- Da Silva, A. C., & Scalize, P. S. (2023). Environmental variables related to *Aedes aegypti* breeding spots and the occurrence of arbovirus diseases. *Sustainability*, 15(10), 8148.
- Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* larvices: A review. *Parasitology Research*, 113, 565–592.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.

- Duke, N. C. (2017). Mangrove floristics and biogeography revisited: Further deductions from biodiversity hot spots, ancestral discontinuities, and common evolutionary processes. *Hydrobiologia*, 803, 7–27.
- Eliza, N., Aulung, A., Subahar, R. (2021). Larvicidal activity and histopathological midgut alteration of *Aedes aegypti* induced by methanol extract of *Phaleria macrocarpa* fruit. *Jurnal Profesi Medika*, 15(2): 215–222.
- Fauziah, N. (2023). Behavioral response of *Aedes aegypti* larvae after exposure to botanical larvicides. *Journal of Vector Ecology*, 48(1), 55–62.
- Fernando, M. Z., Efriyeldi, & Mulyadi, A. (2021). Comparative morphometric *Rhizophora apiculata* flower and fruit in two areas with anthropogenic activities in West Dumai Coastal, Dumai City, Riau Province. *Jurnal Nature Indonesia*, 19(1), 23–28.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2020). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2020(6), 102913.
- Ghosh, S., Kumar, R., & Singh, V. (2022). Morphological alterations in mosquito larvae treated with bioactive phytochemicals: SEM analysis. *Parasitology Research*, 121(4), 1255–1266.
- Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L. L., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., Masek, J., & Duke, N. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 154–159.
- Goldstein, J. (2018). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Springer.
- Govindarajan, M., & Sivakumar, R. (2018). Morphological and histopathological changes in mosquito larvae treated with plant-based larvicides. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(12), 11438–11449.
- Handayani, L. (2021). Evaluation of larvicidal activity of plant extracts against *Aedes aegypti*. *Tropical Biomedicine*, 38(3), 707–715.
- Handayani, R., Sari, N.P., & Rahman, A. (2021). Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen dan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata* dengan metode maserasi. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 18(2), 95–102.

- Hernandez, L. (2021). Sample preparation techniques for SEM in biological research. *Microscopy Today*, 29(5), 22-27.
- Hernandez, J., Morales, L., & Perez, D. (2021). Molecular mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 134, 103586.
- Hidayat, T., Saputra, A., & Lestari, R. (2022). Histopathological alterations in midgut of *Aedes aegypti* larvae exposed to plant-derived larvicides. *Journal of Vector Ecology*, 47(2), 231–239.
- Hidayati, R. (2020). Role of terpenoids as insect growth regulators in mosquito control. *Journal of Parasitology Research*, 12(2), 134–140.
- Houghton, P. J., & Raman, A. (1998). *Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts*. Chapman & Hall.
- Hussain, M., Khan, A., & Qasim, M. (2022). Pathological effects of botanical insecticides on mosquito larvae. *Parasitology Research*, 121, 2045–2054.
- Inayah, V. M., & Bestari, R. S. (2025). *Uji efektivitas ekstrak metanol daun mangrove (Rhizophora apiculata) terhadap mortalitas larva Aedes aegypti*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kamal, S. (2020). Morphological identification of *Aedes aegypti* and its role in dengue transmission. *Journal of Vector Biology*, 45(2), 112–118.
- Kamaraj, C., Balasubramani, S., & Rajakumar, G. (2019). Insecticide resistance in *Aedes aegypti*: A review. *International Journal of Mosquito Research*, 6(2), 12–19.
- Kartikasari, D., Rahman, I. R., dan Ridha, A. (2022). Uji Fitokimia pada Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1):35-42
- Kathiresan, K. (2015). Importance of mangrove ecosystems. *International Journal of Marine Science*, 5(1), 1–16.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2024). *Media Komunikasi Kesehatan, Edisi 167*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kumar, P. M., Murugan, K., Kovendan, K., Subramaniam, J., & Hwang, J. S. (2017). Morphological changes and SEM analysis of mosquito larvae treated with botanical extracts. *Microscopy Research and Technique*, 80(2), 183–191.

- Kumar, A. (2020). Application of SEM in insect morphology studies. *Journal of Advanced Microscopy*, 12(1), 45-53.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2021). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Elsevier.
- Kumawat, R. (2021). Fundamentals of insect histopathology. *Journal of Entomological Research*, 45(3), 375–384.
- Kusumaningrum, A. (2020). Flavonoid-based biolarvicides: Mechanism of action and potential application. *Indonesian Journal of Entomology*, 17(2), 89–96.
- Lestari, D. (2023). Alkaloid compounds as neurotoxic agents for insect control. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13(4), 150–158.
- Lim, J. Y., Lee, D. K., Park, S. H., & Kim, H. C. (2023). Structural damage of mosquito larvae induced by plant-derived larvicides revealed by scanning electron microscopy. *Journal of Vector Ecology*, 48(1), 45–55.
- Linnaeus, C. (1762). *Systema Naturae per Regna Tria Naturae*, 12th ed. Holmiae: Laurentii Salvii.
- Lopes, F. (2020). Vacuum systems in electron microscopy: principles and practice. *Materials Characterization*, 164, 110305.
- Lukman, H. (2023). Comparative SEM imaging of mosquito larvae exposed to botanical larvicides. *Tropical Biomedicine*, 40(2), 210–219.
- Manilal, A., Tajuddin, N.J., Selvin, A.I., Khumar, R.S. & Sujith, S. 2011. In Vitro Mosquito Larvicidal Activity of Marine Algae Against The Human Vectors, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *J. Zool.* 7(3): 272-278.
- Martins, A., Carvalho, D., & Borges, R. (2022). Strategies for managing insecticide resistance in mosquito populations. *Pest Management Science*, 78(9), 3921–3930.
- Mastura, N. I., Martini, & Muh, F. (2025). Diversity of potential plants as larvicides against *Aedes aegypti*: A scoping review. *International Journal of Mosquito Research*, 12(3), 112–115.
- Mello, C. B., Lima, J. B. P., & Silva, C. E. (2020). Histological effects of botanical insecticides on mosquito larvae. *Acta Tropica*, 207, 105473.

- Mendes, F. (2019). Effects of plant extracts on sensilla of mosquito larvae observed by SEM. *Journal of Medical Entomology*, 56(6), 1456–1463.
- Mendez, R., Silva, P., & Torres, V. (2023). Climate change and distribution of dengue vectors. *Global Health Perspectives*, 14(2), 77–89.
- Mohammed, A., Ibrahim, S., & Yusuf, H. (2021). Urban ecology of *Aedes aegypti* and dengue transmission. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 11(8), 345–352.
- Moyes, C. L., Vontas, J., Martins, A. J., Ng, L. C., Koou, S. Y., Dusfour, I., & Ranson, H. (2020). Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(7), e0007780.
- Mukhriani, T. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2)
- Muliana, S., & Azzahra, R. (2025). Larvicidal effects of flavonoid-rich plant extracts on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of Tropical Vector Research*, 18(2), 45–53.
- Mulla, M. S., & Su, T. (2018). Activity and biological effects of botanical insecticides against mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 34(4), 266–276.
- Mulyani, S. (2021). Physiological effects of botanical larvicides on *Aedes aegypti* larvae. *Insect Science*, 28(6), 1342–1350.
- Nugraha, A. (2020). Morphological alteration of mosquito larvae after exposure to plant-derived larvicides. *Journal of Vector Borne Diseases*, 57(4), 310–316.
- Parida, A. K., dan Jha, B. (2010). Salt tolerance mechanisms in mangroves: A review. *Trees*, 24(2), 199–217.
- Patil, J. R., Mhatre, K. J., Yadav, K., Yadav, L. S., Srivastava, S., & Nikalje, G. C. (2024). *Flavonoids in plant-environment interactions and stress responses*. *Discover Plants*, 1(68).
- Pavela, R., & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides. Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000–1007.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Engel, R. G. (2014). *Introduction to spectroscopy*. Cengage Learning.

- Peel, F., & kolega. (2023). The determination of tannin content and larvicidal activity of sapodilla (*Manilkara zapota*) peel extract against *Aedes aegypti*. *International Journal of Mosquito Research*, 10(1), 45–53.
- Perez Castro, R., Rodriguez, M., & Jimenez, J. (2020). Developmental stages of *Aedes aegypti* under urban conditions. *Parasites & Vectors*, 13(1), 44–52.
- Pratama, B. (2022). Histological and morphological damage in *Aedes aegypti* larvae exposed to bioactive extracts. *Medical and Veterinary Entomology*, 36(1), 25–33.
- Pratiwi, D. (2023). Analisis histopatologi larva *Aedes aegypti* setelah perlakuan ekstrak daun mangrove. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(1), 88–97.
- Putri, F. (2022). Terpenoids as growth regulators in mosquito larval development. *Journal of Insect Physiology*, 138, 104–110.
- Ragavendran, C., Amir, R.B.H., Moez, S., & Mustaffa, M.M. (2019). Larvicidal, Histopathological, Antibacterial Activity of Moringa oleifera Leaf Extract on *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 12(1), 329.
- Ragavendran, C., Mariappan, T., Natarajan, D., & Balasubramanian, S. (2021). Flavonoid-induced ultrastructural damage in mosquito larvae: SEM and biochemical insights. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3980–3988.
- Rahmadani, I. (2022). Acetylcholinesterase inhibition by flavonoid compounds in mosquito larvae. *International Journal of Mosquito Research*, 9(2), 40–46.
- Rahman, A. (2020). SEM-based morphological assessment of larval damage by natural insecticides. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(9), 405–412.
- Rahmawati, D. (2022). SEM analysis of larval cuticle damage due to plant extract exposure. *Microscopy Research and Technique*, 85(9), 3021–3028.
- Raveen, R., Ramar, M., & Rajkumar, G. (2024). Control of dengue larvae of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* using larvicidal bioactive compounds in different plant extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(1), 12–22.

- Ravi, K., Ramesh, A., & Kumar, S. (2021). Histopathological changes in mosquito larvae after exposure to plant extracts. *International Journal of Mosquito Research*, 8(3), 45–52.
- Ravikumar, S., Gnanadesigan, M., Suganthi, P., & Ramalakshmi, A. (2011). Antibacterial potential of chosen mangrove plants against isolated urinary tract bacterial pathogens. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 3(4), 105–112.
- Reimer, L. (2017). *Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis*. Springer.
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., & Kitching, I. J. (2017). Phylogeny and classification of *Aedes* mosquitoes: Morphological perspectives. *Zootaxa*, 4299(1), 1–71.
- Rey, D., Cuany, A., Pautou, M. P., & Meyran, J. C. (2018). Histopathological effects of botanical insecticides on mosquito larvae midgut. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(12), 11331–11340.
- Rueda, L. M. (2004). *Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission*. Washington, DC: Walter Reed Army Institute of Research.
- Rueda, L. (2020). Transmission dynamics of dengue virus by *Aedes aegypti*. *Tropical Medicine Reports*, 15(1), 31–38.
- Rodriguez, L., Batista, D., & Lopez, M. (2018). Effectiveness of chemical control against *Aedes aegypti*. *Journal of Pest Management*, 34(3), 201–210.
- Rout, S. P., Choudary, K. A., Kar, D. M., Das, L., & Jain, A. (2009). Plants in traditional medicinal system—future source of new drugs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1–23.
- Sanei Dehkordi, A., Tagizadeh, A. M., Bahadori, M. B., Nikkhah, E., Pirmohammadi, M., Rahimi, S., & Nazemiyeh, H. (2024). Larvicidal potential of *Trachyspermum ammi* essential oil and *Delphinium speciosum* extract against malaria, dengue, and filariasis mosquito vectors. *Scientific Reports*, 14, 20677.
- Santos, J., Oliveira, P., & Costa, R. (2022). Adaptation strategies of *Aedes aegypti* in tropical environments. *Vector Ecology Journal*, 47(4), 223–230.

- Santoso, E. (2020). Botanical insecticides for dengue vector control: Efficacy and challenges. *Journal of Public Health Research*, 9(3), 88–95.
- Sapitri, A., Asfianti, V., & Marbun, E.D. (2021). Pengelolaan tanaman herbal menjadi simplisia sebagai obat tradisional. *Jurnal Abdimas Mutiara*, 2(1), 45–51.
- Sari, M. (2021). Tannin as a natural larvicide: Mode of action and potency. *Malaysian Journal of Science*, 40(4), 22–29.
- Sari, M.P., Susilowati, R.P., Timotius, K.H. (2023). Larvicidal activity of ethyl acetate leaf extract of *Aegle marmelos* against *Aedes aegypti*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(4): 643–652.
- Sari, N. (2017). *Uji aktivitas larvasida ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% akar napas Rhizophora apiculata Blume terhadap larva Aedes aegypti L.* Skripsi, UIN Alauddin Makassar.
- Sarker, S. D., dan Nahar, L. (2012). *Chemistry for pharmacy students: General, organic and natural product chemistry*. John Wiley & Sons.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.
- Sayono, S., Anwar, R., & Sumanto, D. (2020). Larvicidal activity of ethyl acetate extract of *Derris elliptica* root against the third-instar larvae of cypermethrin-resistant *Aedes aegypti* offspring. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 14(4), 391–399.
- Senthil-Nathan, S. (2015). A review of biopesticides and their mode of action against insect pests: Implications for insect midgut histopathology. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 1–13.
- Serdeiro, M. T., Dias, T. D., de Lima, N. T. R., Barbosa-Filho, J. M., Belato, R. d. S., Santos-Mallet, J. R. d., & Maleck, M. (2023). Study on Morphological Changes and Interference in the Development of *Aedes aegypti* Caused by Some Essential Oil Constituents. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(9), 440.
- Setiawan, R. (2023). Cytotoxic effects of plant metabolites on mosquito larvae midgut epithelium. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 17(5), e0010456.

- Shaalán, E. A. S., Canyon, D., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H., & Mansour, A. H. (2005). A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*, 31(8), 1149–1166.
- Sharma, M. (2016). *Larvicidal activity of fractions of Sphaeranthus indicus against Aedes aegypti larvae*. *Diptera Journal*, 3(2), 513–522.
- Sheila, K., Verma, A., & Patel, R. (2020). Biological control of mosquito larvae using microbial and aquatic agents. *Ecological Control Studies*, 18(1), 55–63.
- Shofiyanta, D., & Sadiyah, T. (2021). *Phytochemical-induced oxidative stress as a mechanism of larval mortality in Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology*, 46(1), 78–85.
- Silverio, M. R. S., Lima, R. A., Furtado, R. A., Veiga, T. A. M., & Silva, M. G. (2020). Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*. *Molecules*, 25(15), 3484.
- Singh, R. (2019). Depth of field advantages of SEM in entomological studies. *Microscopy Research*, 27(2), 101–109.
- Siregar, P. (2020). Larval mortality rate as a standard bioassay endpoint for botanical larvicides. *Journal of Vector Ecology*, 45(2), 189–196.
- Sofianna, D., Rizka, S., & Alamsyah, A. (2023). Evaluasi kualitas simplisia daun herbal tropis berdasarkan kondisi pengeringan dan penyimpanan. *Jurnal Farmasi Tropis*, 7(2), 85–93.
- Soni, N., & Prakash, S. (2019). Scanning electron microscopy analysis of mosquito larvae exposed to plant extracts. *Microscopy Research and Technique*, 82(9), 1473–1481.
- Soni, S., Effendi, I., & Nursyirwani. (2022). Using *Rhizophora apiculata* extract for mosquito larvae control. *Tropical Marine Environmental Sciences*, 1(1), 25–31.
- Spalding, M., Kainuma, M., & Collins, L. (2014). *World Atlas of Mangroves*. Routledge.
- Stahl, E. (1988). *Thin-layer chromatography: A laboratory handbook*. Springer-Verlag.
- Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book*. Elsevier Health Sciences.

- Suwartawan, I. G. D., Hestningsih, R., Martini, M., Udijono, A., & Ariani, R. (2022). *Life cycle of Aedes aegypti based on acidity variation of domestic sewage water*. SEAMEO Tropical Medicine Network Journal, 53(S2).
- Tan, K. S., Azman, A. S., Hassandarvish, P., Amelia-Yap, Z. H., Tan, T. K., & Low, V. L. (2023). Protein profiling of *Aedes aegypti* treated with *Streptomyces* sp. KSF103 ethyl acetate extract reveals potential insecticidal targets and metabolic pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12398.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An Update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141, 399 – 436.
- Villarreal, M. R. (2017). *The Ae. aegypti life cycle showing aquatic and terrestrial stages*. Dalam Eilerts, D. *Recombinant Expression and Potential Autocatalysis of Aedes aegypti Trypsin-like Serine Proteases (AaSPII and AaSPIV)*.
- Wang, L., dan Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300–312.
- Wardina, M. A., Mustofa, S., & Malarangeng, A. N. T. (2025). *Potential of Rhizophora apiculata as phytopharmaca: A review of pharmacological activities and phytochemical compounds*. Medical Profession Journal of Lampung, 13(2), 620
- Wardani, L. (2020). Mode of action of tannins in disrupting insect digestive system. *Journal of Applied Entomology*, 144(7), 567–573.
- Warikoo, R., Ray, A., Sandhu, J. K., Samal, R., Wahab, N., & Kumar, S. (2012). Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Camellia sinensis* (L.) against the dengue vector *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*, 110(5), 2023–2030.
- Wasihun, Y., Habteweld, H. A., Ayenew, K. D. (2023). Antibacterial activity and phytochemical components of leaf extract of *Calpurnia aurea*. *Scientific Reports*, 13:9767
- Widodo, T. (2021). Alkaloid-based botanical insecticides: Mechanisms and field application. *Pest Management Science*, 77(8), 3572–3580.

- Wong, S., Lim, C., & Tan, J. (2022). Arboviral diseases transmitted by *Aedes aegypti*: An update. *Frontiers in Tropical Diseases*, 2(5), 101–113.
- World Health Organization (WHO). (2005). *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides*, Geneva: WHO Press.
- World Health Organization (WHO). (2023). *Dengue and severe dengue*.
- World Health Organization (WHO). (2022). *Global Vector Control Response 2017–2030*. Geneva: WHO.
- Wulandari, R. (2021). Histopathological evaluation of *Aedes aegypti* larvae exposed to bioinsecticides. *Journal of Histology and Cytology*, 49(3), 170–176.
- Yuliani, F. (2021). Respiratory siphon damage in mosquito larvae caused by plant extracts. *Journal of Medical Entomology*, 58(5), 2200–2206.
- Zahra, F., Hidayat, R., & Pontjosudargo, S. (2025). *Tannin-induced disruption of digestive enzymes and gut histology in mosquito larvae*. *Indonesian Journal of Entomology*, 12(1), 15–26.
- Zhang, Y.-R., Qiao, H.-L., Ren, L.-L., Wang, R., & Lu, P.-F. (2020). Sample Preparation Method of Scanning and Transmission Electron Microscope for the Appendages of Woodboring Beetle. *Journal of Visualized Experiments*.
- Zhang, Y. (2022). Signal detection and image formation in SEM: an updated review. *Journal of Microscopy*, 285(3), 21