

Studi Literatur: Potensi Daya Bunuh Tanaman Keluarga Asteraceae Terhadap Larva Aedes Aegypti

Literature Review: The Killing Power Potency of Asteraceae Plants Againts Aedes Aegypti Larvae

Muhammad Noer Perdana Sakti Widodo ¹ Indria Augustina ² Elsa Trinovita ^{3*} Ratna Widayati ⁴ Arif Rahman Jabal ⁵

- ¹Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia
- 2.5 Departemen Parasitologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia
- *3 Departemen Farmakoterapi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia
- ⁴ Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

*email: elsa3novita@gmail.com

Abstrak

Nyamuk Aedes aegypti merupakan penular utama penyakit demam berdarah dengue yang menjadi masalah kesehatan penting di Indonesia dan dunia. Vektor utama dalam penyebaran penyakit demam berdarah dengue (DBD) yaitu nyamuk Aedes (Stegomyia) aegypti (aegypti) yang berasal dari Afrika. Data kasus DBD yang tercatat hingga minggu ke-49 tahun 2020 sebanyak 95.893 kasus dan kasus kematian sebanyak 661 kasus. Kontrol biologis dengan menggunakan bahan-bahan alami berupa tumbuhan keluarga Asteraceae yang memiliki aktivitas larvasida merupakan salah satu cara mencegah penyebaran serta perkembangbiakan vektor utama. Studi literatur ini bertujuan untuk mengetahui potensi tumbuhan keluarga Asteraceae sebagai larvasida terhadap nyamuk Aedes aegypti. Metode studi literatur yang digunakan dengan pendekatan systematic review. Sumber data yang digunakan adalah data sekunder yang diperoleh dari Google Scholar dan sintesis data dilakukan menggunakan metode SPIDER. Berdasarkan proses penelusuran data diperoleh 17 jurnal yang memenuhi kriteria inklusi yaitu 9 jurnal (52,95%) menunjukan bahwa tanaman keluarga Asteraceae memiliki potensi rendah menjadi larvasida Aedes aegypti dan 8 jurnal (47,05%) menunjukan bahwa tanaman keluarga Asteraceae berpotensi menjadi larvasida Aedes aegypti, hal ini berdasarkan nilai LC50 yang dihasilkan > 1000 ppm yang menandakan bahwa aktivitas larvasida tergolong rendah. Berdasarkan hasil studi literatur yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa tumbuhan keluarga Asteraceae memiliki potensi larvasida rendah terhadap nyamuk Aedes aegypti.

Kata Kunci:

Asteraceae Aedes aegypti Larvasida

Keywords:

Asteraceae Aedes aegypti Larvicide

Abstract

Aedes aegypti is the main transmitter of dengue hemorrhagic fever which is an important health problem in Indonesia and the world. The main vector of dengue hemorrhagic fever (DHF) is the Aedes aegypti mosquito which originated from Africa and discovered in Indonesia in 1968 in Surabaya. DHF continues to spread to all 472 districts or cities in 34 provinces in Indonesia. Data on dengue cases recorded until the 49th week of 2020 were 95,893 cases and 661 cases of death. Biological control using natural ingredients which is Asteraceae family plants that have larvicidal activity is one of the methode to prevent transmission and reproduction of the main vector. The object of this study is to know the potential of Asteraceae family plants as larvicides against Aedes aegypti. The method of this study is systematic review. The data sources used are secondary data obtained from Google Scholar. The keywords are Asteraceae, Aedes aegypti and larvicide. There are 17 literatures which fulfill the criteria. Synthesis of data is using SPIDER. The result of this study is, from 17 international and national journals reviewed, there were 9 (52,95%) journals shows that Asteraceae family plants have low potential to become Aedes aegypti larvicides and 8 (47,05%) journals shows that Asteraceae family plant have the potential to become Aedes aegypti larvicides, this is based on the LC₅₀ value >1000ppm which indicates that the larvicidal activity is low. Asteraceae family plants have low potential to become Aedes aegypti larvicides.



PENDAHULUAN

Nyamuk Aedes aegypti merupakan penular utama penyakit demam berdarah dengue yang menjadi masalah kesehatan penting di Indonesia dan dunia. Vektor utama dalam penyebaran penyakit demam berdarah dengue (DBD) yaitu nyamuk Aedes (Stegomyia) aegypti (aegypti) yang berasal dari Afrika dan pertama kali dikenal di Indonesia pada tahun 1968 di Surabaya. (Achmadi et al, 2010). DBD terus menyebar ke seluruh 472 kabupaten/kota pada 34 Provinsi di Indonesia. Data kasus DBD yang tercatat hingga minggu ke-49 tahun 2020 sebanyak 95.893 kasus dan kasus kematian sebanyak 661 kasus (Widayati, 2021).

Mencegah penyakit DBD dilakukan dengan mencegah penyebaran serta perkembangbiakan vector utama dengan berbagai upaya (Achmadi et al, 2010). WHO merekomendasikan 4 (empat) metode pengendalian vektor, salah satunya kontrol biologis dengan menggunakan bahan-bahan alami. Salah satunya berupa aktivitas larvasida yang berasal dari tumbuhan (WHO, 2012),

Keluarga Asteraceae menyediakan banyak spesies yang terbukti memiliki efek larvasida terhadap nyamuk Aedes aegypti (Dias et al, 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kumar menunjukkan bahwa tanaman Parthenium hysterophorus dengan sampel bagian daun dan diolah dengan pelarut heksana menghasilkan efek larvasida tinggi terhadap larva Aedes aegypti dengan nilai LC50 sebesar 47,69 ppm (Kumar et al, 2012). Penelitian Rajmohan menunjukan bahwa tanaman Chromolaena odorata L. menghasilkan efek larvasida yang tinggi dengan sampel bagian daun dan diolah dengan pelarut aseton dengan nilai LC50 sebesar 101,49 ppm (Rajmohan et al, 2011).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Aminu et *al 2020*, ditemukan bahwa tanaman *Cosmos caudatus* dengan sampel bagian daun dan diolah dengan pelarut Heksana menghasilkan efek larvasida yang rendah terhadap larva instar IV *Aedes aegypti* dengan nilai LC₅₀ sebesar 1762 ppm (Aminu et *al*, 2020). Pada penelitian Yulianti

ditemukan bahwa tanaman *Chromolaena odorata* L. dengan sampel bagian daun dan diolah dengan pelarut nheksana menghasilkan efek larvasida yang rendah yaitu LC_{50} sebesar 16.358 ppm (Yulianti et al, 2017).

Potensi tanaman sebagai larvasida sangat bervariasi sesuai dengan faktor intrinsik seperti spesies, bagian tanaman, atau faktor ekstrinsik yaitu metode dan pelarut yang digunakan (Astriani et al, 2016). Berdasarkan uraian diatas, terdapat perbedaan hasil efek larvasida pada tanaman yang masih satu keluarga Asteraceae. Studi literatur ini bertujuan untuk mengetahui potensi daya bunuh tanaman keluarga Asteraceae terhadap larva Aedes aegypti serta Menganalisis nilai LC₅₀ tanaman keluarga Asteraceae sebagai larvasida terhadap larva nyamuk Aedes aegypti.

METODOLOGI

Desain Penelitian

Desain penelitian ini memakai metode kepustakaan atau studi literatur (*literature review*). Studi literatur dalam penelitian ini menggunakan metode *Systematic literature review* (SLR) dengan cara sistematis mengevaluasi, mengintegrasikan, dan menyajikan secara kritis berbagai studi penelitian tentang permasalahan penelitian dan menilai keaslian dari sumber jurnal atau artikel yang digunakan.

Sumber Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekunder, diperoleh bukan dari pengamatan langsung. Data tersebut didapat dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya yang dipublikasi secara online.

Kriteria Pemilihan (Inklusi dan Eksklusi)

Kriteria inklusi meliputi rentang penerbitan jurnal tahun 2012-2022, subjek Asteraceae, Artikel penelitian orisinil, tema tanaman sebagai larvasida, dengan *variable independent* spesies tanaman Asteraceae, *variable dependent* larva Aedes aegypti, metode penelitian eksperimen, sajian data Lethal Concentration (LC₅₀), bagian tanaman, dan teknik pemisahan senyawa. Kriteria

eksklusi meliputi penelitian studi literatur dan tidak tersedia teks lengkap.

Proses Penelusuran Data

Jurnal yang digunakan dalam penelitian didapatkan dengan pencarian jurnal menggunakan electronic data base berupa Google scholar. Kata kunci meliputi Asteraceae, Aedes aegypi, Larvasida dan Larvicide dengan rentang waktu 10 tahun 2012-2022. Artikel disaring atas judul dan abstrak, Jurnal dieliminasi berdasarkan kriteria eksklusi. Artikel disaring dengan membaca keseluruhan teks dan disaring berdasarkan kriteria inklusi. Hasil pencarian yang didapat sebanyak 17 jurnal. Jurnal yang telah didapat di analisis kualitas datanya dengan Quality Assesment (QA).

Sintesis Data

Jurnal penelitian yang didapat kemudian dikumpulkan dan dibuat ringkasan meliputi nama peneliti, sampel penelitian, metode dan output penelitian. Ringkasan jurnal penelitian berupa spesies jenis tanaman kemudian dimasukkan ke dalam tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel I dibawah menunjukan hasil sintesis data 17 jurnal berdasarkan pengelompokan urutan jurnal nasional dan internasional.

Hasil Analisa LC₅₀

Analisa berdasarkan nilai LC₅₀ (Lethal Concentration) yang menandakan suatu konsentrasi dapat membunuh 50% dari objek penelitian (Astriani et al, 2010). Semakin rendah nilai LC₅₀ suatu zat maka semakin tinggi aktivitas larvasida zat tersebut, sementara itu semakin tinggi nilai LC₅₀ suatu zat maka semakin rendah aktivitas larvasida zat tersebut, hal tersebut disebabkan semakin banyak konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh suatu populasi maka semakin tidak kuat zat tersebut memiliki aktivitas. Nilai LC₅₀ <1000 ppm menandakan bahwa suatu zat memiliki aktivitas larvasida tinggi sehingga berpotensi menjadi larvasida Aedes aegypti. Nilai LC₅₀ >1000 ppm menandakan bahwa suatu zat memiliki efek larvasida rendah sehingga tidak berpotensi menjadi

larvasida Aedes aegypti (Yulianti et al, 2017). Persentase 17 jurnal dalam menghasilkan nilai LC_{50} dapat dilihat pada Gambar I.



Gambar I. Persentase 17 jurnal dalam menghasilkan nilai LC₅₀

Berdasarkan hasil review pada 17 jurnal yang menjadi data penelitian ini, didapatkan sebanyak 8 jurnal (47.05%) menghasilkan nilai LC₅₀ < 1000 ppm (Yulianti et al, 2017 = 738,93ppm; Rochmat et al, 2017 = 96,34ppm; Arivoli et al, 2016 = 36,76ppm; Jagruti et al, 2014 = 138ppm; Kumar et al, 2012 = 379,76ppm; Morejon et al, 2018 = 0.28ppm; Cheah et al, 2013 = 276.14ppm, Chellappandian et al, 2017 = 140ppm) yang menandakan bahwa tanaman keluarga Asteraceae memiliki aktivitas larvasida tinggi terhadap larva nyamuk Aedes aegypti, sedangkan 9 jurnal (52.95%) menghasilkan nilai LC50 >1000 ppm (Aminu et al, 2020 = 1762ppm; Marini et al, 2018 = 1763ppm, Sholeha et al, 2018 = 1907,83; Fuadzy et al, 2012 = 62710ppm; Salsabila et al, 2021 = 1140ppm; Siharis et al, 2018 = 59340ppm; Mardiana et al, 2021 = 35700ppm; Zulfikar et al, 2019 = 38400, Tennyson et al, 2015=1952ppm) yang menandakan bahwa tanaman keluarga Asteraceae memiliki aktivitas larvasida rendah terhadap larva nyamuk Aedes aegypti.

Adanya faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas larvasida suatu tanaman menghasilkan perbedaan nilai LC yang signifikan. Banyak tanaman yang memiliki kandungan fitokimia larvasida, perbedaan efek yang dihasilkan terhadap berbagai spesies nyamuk disebabkan oleh banyak faktor seperti spesies tanaman, bagian tanaman, lokasi geografis di mana tanaman tumbuh dan metode maupun

Tabel I. Hasil Sintesis Data

No.	Referensi	Metode Penelitian	Hasil Penelitian $LC_{50} = 738,938 \text{ ppm.}$		
I	Yulianti et al, 2017	Penelitian Eksperimen Murni (True experiment). Chromolaena odorata terhadap larva Aedes aegypti.			
2	Rochmat et al, 2017	Penelitian eksperimental murni (True experiment). Pluchea indica Less terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 96,34 ppm.		
3	Aminu et al, 2020	Penelitian Eksperimen (True Eksperimen). Cosmos caudatus terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 1762 ppm		
4	Marini et al, 2018	Penelitian eksperimen murni (True Eksperiment). Tagetes erecta terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 1763 ppm.		
5	Sholeha et al, 2018	Metode eksperimental murni. (True experiment). Pluchea indica Less terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 1907,83 ppm		
6	Fuadzy et al, 2012	Penelitian Eksperimental Murni (True experiment). Gynura psudochina (L.) DC. terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 62710 ppm		
7	Salsabila et al, 2021	Eksperimen Murni (True experiment). Tithonia diversifolia terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 1140 ppm.		
8	Siharis et al, 2021	Eksperimen murni (True experiment). Chromolaena odorata terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 59340 ppm.		
9	Mardiana et al, 2021	Eksperimen Murni (True experiment). Chromolaena odorata terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 35700 ppm.		
10	Zulfikar et al, 2019	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Tagetes erecta terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 34840 ppm		
Ш	Arivoli et al, 2016	Penelitian Murni (True Experiment). Sphaeranthus	LC ₅₀ = 36,76 ppm		

		indicus L. terhadap larva Aedes aegypti.	
12	Jagruti et al, 2014	Penelitian Eksperimen Murni. Chromolaena odorata terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 138 ppm
13	Kumar et al, 2012	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Parthenium hysterophorus terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 379,76 ppm
14	Morejon et al, 2018	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Ambrosia arborescens terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 0,28 ppm
15	Cheah et al, 2013	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Artemisia annua terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 276,14 ppm
16	Chellappandian et al, 2017	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Sphaeranthus indicus L. terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 140 ppm
17	Tennyson et al, 2015	Penelitian Eksperimen Murni (True Experiment). Ageratum houstonianum Mill. terhadap larva Aedes aegypti.	LC ₅₀ = 1952 ppm

pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tanaman (Jagruti et al, 2017). Tabel 2 menyajikan ringkasan hasil analisa mengenai faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas tanaman menjadi larvasida $Aedes\ aegypti$, berdasarkan bagian tanaman, teknik pemisahan senyawa tanaman, pelarut, senyawa yang dilaporkan serta nilai LC_{50} .

Pelarut Pada Jurnal LC₅₀ < 1000 ppm

Sebagian besar penelitian yang menghasilkan larvasida tinggi menggunakan heksana sebagai pelarutnya (tabel 2 no.1,13,15), dikuti dengan etil asetat (tabel 2 no.2,11) dan metanol serta akuades (tabel 2 no.12,14). Jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida tertinggi terdapat pada jurnal no 14 menggunakan pelarut akuades dengan nilai $LC_{50}=0.28$ ppm diikuti dengan jurnal no,2 menggunakan pelarut etanol dengan nilai $LC_{50}=96,34$ ppm. Gambar 2 dibawah ini menunjukan persentase pelarut yang digunakan pada jurnal yang menghasilkan larvasida tinggi.



Gambar II. Pelarut yang digunakan pada jurnal aktivitas larvasida tinggi

Pelarut Pada Jurnal LC₅₀ > 1000 ppm

Berdasarkan tabel 2, terdapat 9 penelitian yang menghasilkan aktivitas larvasida tinggi (no.3,4,5,6, 7,8,9,10,17), satu diantaranya no 10 (Zulfikar et al. 2019) tidak menyebutkan pelarut yang digunakan. Sebagian besar penelitian yang menghasilkan larvasida rendah menggunakan etanol sebagai pelarutnya (tabel 2 no.4,5,7,8,9) dikuti dengan heksana, akuades dan etil asetat (tabel 2 no.3,6,17). Jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida terendah menggunakan pelarut akuades dengan nilai $LC_{50} = 62710$ ppm (tabel 2 no.6) dan diikuti dengan pelarut etanol dengan nilai $LC_{50} = 59340$ (tabel 2 no.8). Gambar 3 dibawah ini menunjukan

persentase pelarut yang digunakan pada 8 jurnal yang menghasilkan larvasida rendah.



Gambar III. Persentase jurnal dengan aktivitas larvasida rendah

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dapat mempengaruhi toksisitas terhadap vektor karena pelarut yang berbeda menunjukkan gradien polaritas berbeda dalam melarutkan komponen fitokimia (Cheah et al, 2013).

Bagian Tanaman Yang Digunakan

Berdasarkan tabel 2, dari 8 jurnal yang menghasilkan larvasida tinggi, sebanyak 5 jurnal (no.1,2,12,14,16) menggunakan daun. Batang, seluruh bagian tanaman dan *Callus culture* digunakan pada masing-masing 1 jurnal (tabel 2 no.13,11,15). Gambar 4 dibawah menunjukkan persentase bagian tanaman yang dipakai pada 8 jurnal dengan larvasida tinggi.



Gambar IV. Persentase jurnal dengan aktivitas larvasida tinggi berdasarkan bagian tanaman

Tabel II. Ringkasan Hasil Penelitian Tanaman Asteraceae Sebagai Larvasida aedes aegypti

No.	Jurnal	Nama Tanaman	Bagian Tanaman	Teknik Pemisahan	Pelarut	Senyawa	Larva Instar	LC ₅₀ *
				Senyawa Tanaman				
I	Yulianti et al,	Chromolaena	Daun	Maserasi	Heksana	Steroid	III	738,93 ppm
	2017	odorata L.						
2	Rochmat et al,	Pluchea indica	Daun	Maserasi	Etil Asetat	Asam Quanat	III	96,34 ppm
	2017	Less						
3	Aminu et al,	Cosmos Caudatus	Daun	Soxhlet	Heksana	Alkaloid,	IV	1762 ppm
	2020					Flavonoid,		
4	Marini et al,	Tagetes erecta L.	Daun	Maserasi	Etanol	Alkaloid,	III	1763 ppm
	2018					Flavonoid,		
						Saponin		
						Tanin		
5	Sholeha et al,	Pluchea indica (L.)	Daun	Maserasi	Etanol	Saponin,	Ш	1907,83
	2018	Less.				Tanin		ppm
6	Fuadzy et al,	Gynura	Daun	Maserasi	Akuades	Alkaloid,	Ш	62710 ppm
	2012	Pseudochina (L.)				Flavonoid,		
		DC.				Saponin,		
						Tanin		
7	Salsabila et al,	Tithonia	Daun	Maserasi	Etanol	Alkaloid,	Ш	1140 ppm
	2021	diversifolia				Flavonoid,		
						Saponin,		
						Tanin		
8	Siharis et al,	Chromolaena	Daun	Maserasi	Etanol	Saponin, ,	III	59340 ppm
	2018	odorata				Tanin,		
						Alkaloid,		

						Steroid,		
						Flavonoid		
9	Mardiana et al,	Chromolaena	Daun	Maserasi	Etanol	Flavonoid,	Ш	35700 ppm
	2021	odorata L.)				Tanin		
10	Zulfikar et al,	Tagetes erecta	Daun	Maserasi	-	Alkaloid	Ш	38400 ppm*
	2019							
11	Arivoli et al,	Sphaeranthus	Seluruh Bagian	Fraksinasi	Etil Asetat	Alkaloid,	Ш	36,76 ppm
	2016	indicus Linnaeus	Tanaman			Flavonoid,		
						Steroid		
						Tanin,		
12	Jagruti et al,	Chromolaena	Daun	Maserasi	Metanol	-	III/IV	138 ppm
	2014	odorata						
13	Kumar et al,	Parthenium	Batang	Maserasi	Heksana	Alkaloid	Ш	379,76 ppm
	2012	hysterophorus				Terpenoid		
14	Morejon et al,	Ambrosia	Daun	Maserasi	Akuades	Polifenol	Ш	0,28 ppm
	2018	arborescens				(Flavonoid)		
15	Cheah et al,	Artemisia annua	Callus Culture	Maserasi	Heksana	-	Ш	276,14 ppm
	2013							
16	Chellappandian	Sphaeranthus	Daun	Distilasi Uap	-	Di-Tert-Butyl	IV	I40 ppm
	et al, 2017	indicus Linn.						
17	Tennyson et al,	Ageratum	Daun	Maserasi	Etil Asetat	Alkaloid	Ш	1952 ppm
	2015	houstonianum						
		Mill.						

Uraian diatas menunjukan bahwa sebagian besar jurnal yang menghasilkan larvasida tinggi menggunakan bagian daun tanaman sebagai bahan uji. Gambar 5 dibawah menunjukkan persentase jurnal dengan aktivitas larvasida rendah berdasarkan bagian tanaman.



Gambar 5. Persentase jurnal dengan aktivitas larvasida rendah berdasarkan bagian tanaman

Bagian daun sebagai bahan uji menghasilkan larvasida tertinggi dengan nilai LC_{50} sebesar 379,76 ppm. Di sisi lain (Morejon et al, 2012). Sedangkan pada penelitian lainnya yang menggunakan bagian daun sebagai bahan uji, menghasilkan larvasida terendah dengan nilai LC_{50} sebesar 62710 ppm (Fuadzy et al, 2019). Berdasarkan uraian diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa bagian tanaman tidak berpengaruh signifikan terhadap hasil aktivitas larvasida yang dihasilkan.

Potensi Kandungan Fitokimia Terhadap Aktivitas Larvasida

Berbagai fitokimia dilaporkan pada penelitian diatas. Adanya ketidakmampuan larva dalam mendetoksifikasi senyawa fitokimia toksik yang masuk ke dalam tubuhnya, mengakibatkan kematian larva (Yulianti et al, 2017). Gambar 6 dibawah menunjukan fitokimia yang dilaporkan beserta jumlah jurnalnya.

Asam quanat memiliki kemampuan antimikroba dan antifungi. Asam quanat mengakibatkan gangguan alat penecernaan dan pelarutan lipin pada badan bakteri menjadi terbelah dua, Asam quanat diduga dapat menyebabkan kematian awal bagi larva Aedes aegypti (Rochmat et al, 2017).

Steroid merupakan hormon pertumbuhan yang mempengaruhi pergantian kulit larva. Steroid akan mengakibatkan dinding sel kitin pada tubuh larva menebal, sehingga pertumbuhan larva akan terganggu dan menyebabkan kematian pada larva (Yulianti et al, 2017).

Alkaloid berperan sebagai racun yang dapat menurunkan nafsu makan larva (stop feeding action) yang pada akhirnya menyebabkan kematian (Aminu et al, 2020). Senyawa alkaloid dalam bentuk garam mendegradasi membran sel dan merusak sel serta dapat juga merusak sistem kerja saraf. Terjadinya perubahan pada larva seperti menjadi lebih transparan dan gerakannya melambat dan selalu membengkokkan badannya dapat disebabkan oleh senyawa alkaloid (Marini et al, 2018). Alkaloid yang terdapat dalam daun dewa (Gynura Pseudochina) diduga dapat menyebabkan kegagalan dalam proses moulting larva. Nyamuk yang mati abnormal akibat terpapar oleh alkaloid menunjukkan sebagian tubuh nyamuk ada yang tersangkut selubung pupa sehingga terjadi kegagalan moulting. Hal ini terjadi karena senyawa alkaloid dapat merangsang dan mempercepat sel neurosekretori untuk menyekresikan hormon ekdison dan hormon yuwana. Kelebihan hormon ekdison dapat menyebabkan kegagalan dalam proses moulting (Fuadzy et al, 2012). Alkaloid bertindak sebagai racun melalui mulut larva dan memiliki rasa yang pahit. Alkaloid menghambat pertumbuhan larva terutama tiga hormon utama yang ada pada serangga yaitu hormon otak, hormon edikson, dan hormon pertumbuhan. Hormon yang tidak berkembang mengakibatkan kegagalan metamorphosis pada larva (Mardiana et al, 2021). Alkaloid bekerja dengan menyempitkan pembuluh darah dan menekan aktivitas sistem saraf otonom sehingga berkontribusi terhadap efektivitas insektisida dalam membunuh larva (Arivoli et al, 2016).

Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernafasan atau sebagai racun pernafasan. Kondisi larva yang gerakannya melambat dan tidak normal lagi dapat

disebabkan oleh senyawa flavonoid. Cara kerja flavonoid masuk ke tubuh larva yaitu melalui sifon sehingga mengakibatkan kerusakan sistem pernafasan larva. Hal ini terjadi pada penelitian Marini et al terlihat saat pengamatan satu jam, terlihat larva banyak sejajar dipermukaan air, kemungkinan hal itu karena posisi tersebut memudahkannya mengambil oksigen, gerakan dan respon larva melambat, yaitu harus diberi sentuhan baru bergerak (Marini et al, 2012). Flavonoid juga bekerja sebagai penghambat kerja enzim endokrin dan enzim pencernaan sehingga laju pertumbuhan berkurang (Aminu et al, 2020). Sebagian besar flavonoid di alam dapat ditemukan dalam bentuk glikosida. Glikosida dapat menghambat respirasi pada serangga sehingga serangga kekurangan oksigen. Pada larva nyamuk kekurangan oksigen menyebabkan larva tidak mampu untuk bergerak ke permukaan untuk bernapas (Fuadzy et al, 2012). Flavonoid memiliki mekanisme kerja dengan cara masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem respirasi yang akan menimbulkan kelumpuhan pada syaraf serta kerusakan pada sistem respirasi sehingga mengakibatkan larva sulit bernapas dan akhirnya mati (Salsabila et al, 2021). Terpenoid bekerja sebagai racun yang menyebabkan rusaknya sistem pernafasan pada larva (Aminu et al, 2020).

Saponin mempunyai kemampuan untuk merusak membran sel dengan cara merubah struktur sel yang dapat mengakibatkan sel mengalami lisis. Saponin diduga mengandung hormon steroid yang berpengaruh dalam pertumbuhan larva nyamuk. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus menjadi korosif. Kerusakan salah satu organ nyamuk dapat menurunkan proses metabolisme dan penyimpangan dalam proses fisiologinya (Fuadzy et al, 2012). Saponin bersifat racun mulut bagi larva dan memiliki rasa yang pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan serta mengiritasi mukosa saluran cerna (Salsabila et al, 2021).

Tanin berinteraksi dengan protein dapat bersifat racun yang berperan dalam menghambat pertumbuhan dan mengurangi nafsu makan serangga melalui penghambatan aktivitas enzim pencernaan (Marini et al, 2018). Penumpukan sari-sari makanan pada organ pencernaan larva dapat menjadi racun dan secara perlahan-lahan larva akan mati (Fuadzy 2012). Tanin bekerja dengan mengikat enzim protease, dengan terikatnya enzim tersebut oleh tanin, maka kerja enzim protease terhambat, terhambatnya enzim protease mengakibatkan terganggunya metabolisme sel dan kekurangan nutrisi pada larva, kekurangan nutrisi dapat menghambat pertumbuhan larva dan bila berlangsung secara terus-menerus akan berujung kematian (Salsabila et al, 2021). Senyawa ditertbutil ((3,5-di-tert-butyl-4hydroxybenzaldehyde) memiliki efek anti inflamasi dan dapat memberikan berbagai manfaat pada penyakit aterosklerosis. Ditertbutil yang terdapat pada fitokimia tanaman tanaman Sphaeranthus indicus Linn menunjukan efek anti nyamuk yang menjanjikan terhadap vektor (Chellapandian et al, 2015).

Teknik Pemisahan Senyawa Aktif

Pemisahan senyawa aktif pada tanaman bertujuan untuk menguji aktivitas larvasida. Terdapat 4 jenis teknik pemisahan senyawa tanaman yang digunakan pada 17 penelitian diatas, meliputi maserasi, soxhlet, fraksinasi dan distilasi uap. Gambar 6 dibawah menunjukan grafik persentase metode yang digunakan pada jurnal dengan aktivitas larvasida tinggi.



Gambar 6. Teknik pemisahan senyawa yang digunakan pada 8 jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida Tinggi

Sebanyak 6 jurnal (75%, lampiran tabel 2 No.1,2,12, 13,14,15) menggunakan metode maserasi. Sebanyak I jurnal (12,5%) No.11 menggunakan fraksinasi. Sebanyak I jurnal (12,5%) No.16 menggunakan metode ditilasi uap. Hal tersebut menunjukan bahwa sebagian besar jurnal yang menghasilkan aktivitas lavasida tinggi memakai metode maserasi sebagai bahan uji. Gambar 7 dibawah menunjukan grafik persentase metode yang digunakan pada 9 jurnal dengan aktivitas larvasida rendah



Gambar 9. Teknik pemisahan senyawa yang digunakan pada 9 jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida rendah

Berdasarkan gambar 9 diatas, sebagian besar jurnal yang menghasilkan aktivitas rendah menggunakan metode maserasi sebanyak 8 jurnal (89%), dan diikuti dengan metode soxhlet sebanyak 1 jurnal (11%). Berdasarkan uraian diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa Teknik pemisahan senyawa tidak berpengaruh signifikan terhadap hasil aktivitas larvasida yang dihasilkan.

Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin. Maserasi dilakukan dengan cara perendaman suatu tanaman didalam suatu bejana dengan pelarut dan dibiarkan pada suhu kamar dengan tujuan untuk melunakan dinding sel tanaman agar melepaskan senyawa fitokimia terlarut (Mardiana et al, 2021). Maserasi dapat dilakukan secara berulang, pengulangan pada ekstraksi maserasi bertujuan untuk menghasilkan ekstraksi yang maksimal (Yulianti et al, 2017).

Metode soxhlet merupakan penyaringan secara berulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Rendemen yang dihasilkan pada ekstraksi soxhlet lebih besar jika dibandingkan dengnan maserasi, karena adanya perlakuan suhu panas mengakibatkan peningkatan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawasenyawa yang tidak larut pada suhu kamar. Pemisahan senyawa yang lebih maksimal terjadi karena pelarut yang selalu bersirkulasi dalam proses kontak dengan simplisia (Anam et al, 2014).

Metode fraksinasi merupakan metode pemisahan senyawa dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut. Teknik fraksinasi biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur dimasukan kedalam corong pisah kemudian dikocok lalu didiamkan. Senyawa akan terdistribusi ke dalam fase masing-masing bergantung terhadap kelarutan terhadap fase tersebut dan kemudian membentuk dua lapisan, yang dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Dalimunthe et al, 2016). Distilasi uap adalah proses mengalirkan uap air ke dalam campuran bahan yang terdapat komponen yang akan dipisahkan. Pada pemisahan minyak atsiri pada tumbuhan, aliran uap di sekitar batang atau daun akan menyebabkan minyak dari tanamanan ikut teruapkan dan terbawa bersama uap air kemudian diembunkan dan terpisah dengan dekantasi (Sato et al, 2012).

Potensi Tanaman Asteraceae sebagai Larvasida

Chromolaena odorata L menunjukkan aktivitas larvasida tinggi dengan nilai LC_{50} 738 ppm (Yulianti et al, 2017) dan 138 ppm (Jagruti et al, 2014), Pluchea indica dengan nilai LC_{50} 96,34 ppm (Rochmat et al 2017), Sphaeranthus indicus dengan nilai LC_{50} 36,76 ppm (Arivoli et al, 2016) dan 140 ppm (Chellappandian et al, (2017), Parthenium hysterophorus dengan nilai LC_{50} 379,76 ppm (Kumar et al, 2012), Ambrosia arborescens dengan nilai LC_{50} 0,28 ppm (Morejon et al, 2018), dan Artemisia annua dengan nilai LC_{50} 276,14 ppm (Cheah et al, 2013).

Bagian tanaman yang digunakan tidak berpengaruh signifikan terhadap larvasida yang dihasilkan, hal tersebut berdasarkan sebagian besar jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida tinggi maupun rendah menggunakan bagian tanaman daun sebagai bahan uji. Teknik pemisahan senyawa tanaman yang digunakan tidak berpengaruh signifikan terhadap larvasida yang dihasilkan, hal tersebut berdasarkan sebagian besar jurnal yang menghasilkan larvasida tinggi maupun rendah menggunakan maserasi sebagai teknik pemisahan senyawa tanaman.

Sebagian besar jurnal yang menghasilkan aktivitas larvasida tertinggi menggunakan pelarut heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 738 ppm, 379 ppm dan 276 ppm, diikuti dengan etil asetat dengan nilai LC_{50} sebesar 96,34 ppm dan 36,76 ppm. Kandungan fitokimia menunjukkan aktivitas larvasida tinggi berupa steroid, asam quanat, alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, terpenoid dan komponen minyak esensial.

Bagian daun *Pluchea indica* Less dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etil asetat menunjukkan kandungan senyawa asam quanat. Hal ini diperoleh nilai LC_{50} sebesar 96,34 ppm yang berarti menunjukkan aktivitas larvasida tinggi. Sedangkan daun *Pluchea indica* Less dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol menghasilkan aktivitas larvasida rendah dengan nilai LC_{50} sebesar 1907,83. *Ambrosia arborescens* menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 0,28 ppm yang hal ini berarti adanya aktivitas larvasida tinggi.

Adanya peningkatan aktivitas larvasida yang sangat tinggi pada sintesis AgNPs ekstrak akuades bila dibandingkan dengan ekstraksi maserasi akuades tanaman itu saja. Berdasarkan uraian diatas metode ekstrasi maserasi etil asetat yang diolah menjadi granul dengan etanol sebagai bahan pembuatan granul dan ekstraksi akuades sintesis nanopartikel AgNPs memiliki potensi terbaik sebagai metode tanaman sebagai larvasida Aedes aegypti.

Berdasarkan tabel 2 jurnal No.14, pengolahan ekstrak dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut akuades, nantinya diolah menjadi *Silver Nanoparticles Synthesized* (AgNPs). Mekanisme dasar untuk efek toksisitas tinggi AgNP yang disintesis pada ekstrak tanaman masih menjadi pertanyaan peneliti. Beberapa

berpendapat bahwa faktor yang menjadi kuncinya adalah kemampuan untuk menembus melalui eksoskeleton invertebrata dan menembus ke dalam sel serangga, di mana tanaman sintesis AgNP mengikat makromolekul seperti protein dan DNA, dan mengubah strukturnya. Terdapat beberapa laporan bahwa dosis AgNPs hasil sintesis tanaman yang menyebabkan kematian beberapa spesies larva nyamuk memiliki sedikit atau tidak berpengaruh pada spesies nontarget lainnya, termasuk spesies artropoda air lainnya dan ikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa setidaknya beberapa spesies nyamuk sangat rentan terhadap efek mematikan dari AgNPs. Sampai pada saat jurnal tersebut diterbitkan, alasan di balik fenomena ini masih belum diketahui. (Morejon et al, 2018).

Perubahan morfologi warna abdomen pada larva Aedes aegypti menjadi lebih hitam setelah terpapar minyak esensial kulit jeruk purut (Citrus hystrix dc). Minyak esensial mampu merusak dan melewati membran peritropik, kemudian masuk ke sel epitel midgut. Pemeriksaan histologis menunjukan pada midgut larva terjadi vakuolasi, sel epitel terlepas dari membran basal. Kandungan terbesar minyak esensial kulit jeruk purut yaitu limonene, merupakan kelompok monoterpen yang memiliki aktivitas insektisida kuat yang menyebabkan kematian dan kelumpuhan pada serangga dengan memblokir transduksi sinyal saraf (Surati et al, 2018)

Kerusakan eksoskeleton larva Aedes aegypti akibat pemberian bakteri kitinolitik, bakteri kitinolitik diduga merusak kerangka luar larva dengan cara mendegradasi kitin yang merupakan struktur penyusun eksoskeleton. Kitin berfungsi membatasi kehilangan air melalui dinding tubuh. Bakteri kitinolitik menghasilkan enzim kitinase yang mendegradasi kitin dengan memutuskan ikatan glikosidiknya (Yasmin et al, 2013).

Senyawa silika yang terkandung dalam dupa Legiayu menghambat perkembangan larva Aedes aegypti. Senyawa silika merupakan racun pencernaan, pernafasan dan paparan. Senyawa silika bekerja menghambat metabolisme dan sintesis sel, salah satunya dalam pengangkutan elektron pada mitokondria, menyebabkan penurunan performa sel dalam memproduksi energi yang digunakan untuk sumber makanan larva. Abu dupa Legiayu mengandung silika, polifenol, saponin, alkaloid dan senyawa bioaktif lainnya yang menghambat pertumbuhan larva. Senyawa bioaktif mengganggu respon dan rangsangan makan pada serangga, reseptor pada area mulut akan terganggu dan larva kehilangan eksitasi terhadap nutrisi disekitarnya (Adnyana et al, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dilakukan diperoleh sebanyak 9 jurnal (52,95%) yang menghasilkan nilai LC₅₀>1000ppm dan 8 jurnal (47,05%) yang menghasilkan nilai LC50<1000ppm. Tanaman keluarga Asteraceae memiliki potensi rendah menjadi larvasida Aedes aegypti, hal ini didasari oleh nilai LC50 yang dihasilkan >1000 ppm yang menandakan aktivitas larvasida tergolong rendah. Peneliti selanjutnya direkomendasikan melakukan penelitian tanaman Asteraceae dengan menggunakan jenis tanaman dan pelarut yang menghasilkan aktivitas larvasida tinggi. Berdasarkan uraian diatas jenis tanaman yang menghasilkan aktivitas larvasida tinggi yaitu Chromolaena odorata L, Pluchea indica, Sphaeranthus indicus, Parthenium hysterophorus, Ambrosia arborescens dan Artemisia annua. Pelarut yang menghasilkan aktivtas larvasida tinggi yaitu dengan pelarut heksana dan etil asetat. Analisis screening senyawa fitokimia secara kuantitatif dianjurkan dalam menentukan biomarker pada tanaman Asteraceae dengan menggunakan HPLC, GC-MS atau teknik analisis lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur peneliti panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, peneliti dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dan tidak bias disebutkan satu persatu.

REFERENSI

- Achmadi, U., Sudjana P., Sukowati, S., Wahyono, T.Y.
 M.K., Haryanto, B., Mulyono, S.,
 Adiwibowo. A., (2010). Buletin Jendela
 Epidemiologi. Pusat Data dan Surveilans
 Epidemiologi Kemenkes RI:. ISSN 2087 –
 1546
- Adnyana, I. M. D. M., Sudaryati, N. L. G., & Sitepu, I. (2021). Toxicity of Legiayu incense as Insecticide and Larvicide Against Aedes aegypti Mosquitoes Mortality. Indonesian Journal of Pharmacy, 32(4), 524-521.
- Aminu, N. R., Pali, A., & Hartini, S. (2020). Potensi kenikir (*Cosmos caudatus*) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* instar IV. Jurnal Biologi Tropis, 20(1), 16-21.
- Anam, C., & Agustini, T. W. (2014). Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi spirulina platensis serbuk sebagai antioksidan dengan metode soxhletasi. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 3(4), 106-112.
- Arivoli, S., Tennyson, S., Raveen, R., Jayakumar, M., Senthilkumar, B., Govindarajan, M., ... & Vijayanand, S. (2016). Larvicidal activity of fractions of Sphaeranthus indicus Linnaeus (Asteraceae) ethyl acetate whole plant extract against Aedes aegypti Linnaeus 1762, Anopheles stephensi Liston 1901 and Culex quinquefasciatus Say 1823 (Diptera: Culicidae). Int. J. Mosq. Res, 3, 18-30.
- Cheah, S. X., Tay, J. W., Chan, L. K., & Jaal, Z. (2013). Larvicidal, oviposition, and ovicidal effects of Artemisia annua (Asterales: Asteraceae) against Aedes aegypti, Anopheles sinensis, and Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). Parasitology Research, 112(9), 3275-3282.
- Chellappandian, M., Thanigaivel, A., Vasantha-Srinivasan, P., Edwin, E. S., Ponsankar, A., Selin-Rani, S., ... & Benelli, G. (2018). Toxicological effects of Sphaeranthus indicus Linn.(Asteraceae) leaf essential oil against human disease vectors, Culex quinquefasciatus Say and Aedes aegypti Linn., and impacts on a beneficial mosquito predator. Environmental science and pollution research, 25(11), 10294-10306.

- Dalimunthe, C. I., Sembiring, Y. R. V., Andriyanto, M., Siregar, T. H., Darwis, H. S., & Barus, D. A. (2016). Identifikasi dan uji metabolit sekunder bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) terhadap penyakit jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) di laboratorium. Jurnal Penelitian Karet, 34(2), 189-200.
- Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae) larvicides. Parasitology research, 113(2), 565-592.
- Fuadzy, H., & Marina, R. (2012). Potensi Daun Dewa (Gynura Pseudochina I. Dc.) Sebagai Larvasida Aedes Aegypti (Linn.). Aspirator-Journal of Vector-borne Disease Studies, 4(1), 7-13.
- Jagruti, S. H., Kumar, H., Godinho, M. H. S., & Kumar, A. (2014). Larvicidal activity of methanolic leaf extracts of plant, Chromolaena odorata L.(Asteraceae) against vector mosquitoes. International Journal of Mosquito Research, 1(3), 33-38.
- Mardiana, E. (2021). Uji Efektivitas Larvasida Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Nyamuk Aedes Aegypti (Doctoral dissertation, Universitas Mataram).
- Marini, M., Ni'mah, T., Mahdalena, V., Komariah, R. H., & Sitorus, H. (2018). Potensi Daya Tolak Ekstrak Daun Marigold (*Tagetes erecta* L.) terhadap Nyamuk Aedes aegypti. Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara, 53-62.
- Morejón, B., Pilaquinga, F., Domenech, F., Ganchala, D., Debut, A., & Neira, M. (2018). Larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized using extracts of Ambrosia arborescens (Asteraceae) to control Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae). Journal of Nanotechnology, 2018.
- Rajmohan, D., & Logankumar, K. (2011). Studies on the insecticidal properties of Chromolaena odorata (Asteraceae) against the life cycle of the mosquito, Aedes aegypti (Diptera: culicidae). Journal of research in Biology, 4, 253-257.
- Rochmat, A., Napitasari, M., & Karina, A. M. Efikasi Granul Biolarvasida Nyamuk Aedes aegypti Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (The Effication Of Aedes Aegypti Biolarvasida

- Granul From Etil Acetat Extract Of Marsh Fleabane Leaves).
- Salsabila, V., Biworo, A., & Wydiamala, E. (2021).

 Aktivitas Ekstrak Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia) sebagai Ovisida dan Insect Growth Regulator terhadap Nyamuk Aedes aegypti. Homeostasis, 4(2), 305-318.
- Sato, A. (2012). Distilasi uap pada pemisahan minyak atsiri dengan menggunakan uap superheated. Jurnal IPTEK, 16(2), 104-110.
- Siharis, F. S., Himaniarwati, H., & Regikal, R. (2018). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti Instar III. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, 4(1), 20-27.
- Surati, S. (2018). Efek Ekstrak Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix DC) terhadap Morfologi dan Histologi Larva Aedes aegypti. Aspirator-Journal of Vector-borne Disease Studies, 10(2), 119-126.
- Tennyson, S., Ravindran, J., Eapen, A., & William, J. (2015). Larvicidal activity of Ageratum houstonianum Mill.(Asteraceae) leaf extracts against Anopheles stephensi, Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 5, S73-S76.
- World Health Organization. (2012). Handbook for integrated vector management. World Health Organization.
- Yasmin, Y., & Fitri, L. (2013). Perubahan morfologi larva nyamuk akibat pemberian larvasida bakteri kitinolitik. Jurnal Entomologi Indonesia, 10(1), 18-18.
- Yulianti, L., Supriadin, A., & Rosahdi, T. D. (2017). Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Ekstrak N-Heksana Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Larva Aedes aegypti. al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan, 4(1), 38-44.
- Zulfikar, Z., Khairunnisa, K., & Yasir, Y. (2019).

 Pengaruh Ekstrak Daun Bunga Tahi Ayam
 (Tagetes erecta) Terhadap Kematian Larva
 Aedes aegypti. Sel Jurnal Penelitian
 Kesehatan, 6(2), 66-73.