

Aktivitas Larvasida Hasil Partisi Etil Asetat dari Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap Larva *Aedes aegypti*

I Wayan Muderawan¹, Ni Putu Ristiati²

¹Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja Bali

²Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja Bali

Email: iwayanmuderawan@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the LC_{50} (lethal concentration) of custard apple (*Annona squamosa*) seeds partition extract against *Aedes aegypti* larvae. The seeds were collected in Ungasan village, Badung and Banjar Tegal village, Buleleng. The air dried seeds was powdered and then soaked in 95% ethanol for 3 days and the residue was further extracted once. The combined filtrate was concentrated by using vacuum rotary evaporator. The concentrated crude extracts were extracted by partition method, giving a yield of 9.75% for seeds collected in Badung and 9.60% for those collected in Buleleng. The partition extracts were taken for larval bioassay against third instar *Aedes aegypti* larvae. The larvicidal activities were observed after 24 hours exposure by calculating the mortality of larvae in each concentration. Based on probit analysis, the LC_{50} of ethyl acetate partition extracts of *Annona squamosa* seeds collected in Badung and that in Buleleng are 17.10 ppm and 16.12 ppm respectively. The result showed that *Annona squamosa* seeds partition extract is toxic toward *Aedes aegypti* larvae, indicating a potential for developing the extract as a novel larvicide.

Key words: partition, larvicidal activity, *Annona squamosa*, *Aedes aegypti*, LC_{50}

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan nilai LC_{50} (lethal concentration) dari hasil partisi etilasetat ekstrak kasar biji srikaya (*Annona squamosa*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Sampel biji *Annona squamosa* diperoleh dari Badung dan Buleleng. Biji srikaya yang sudah kering digerus dan dimaserasi sebanyak dua kali dengan etanol 95% selama 3 hari. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator vakum. Ekstrak kasar biji srikaya yang diperoleh kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat, dan pelarutnya diupkan sehingga diperoleh ekstrak hasil partisi kental. Ekstrak hasil partisi biji srikaya yang diperoleh adalah sebesar 9,75% untuk srikaya Badung dan 9,60% untuk srikaya Buleleng. Ekstrak hasil partisi ini selanjutnya diuji aktivitasnya terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Pengamatan hasil uji larvasida dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah kematian larva pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan analisis probit, nilai LC_{50} ekstrak hasil partisi dari ekstrak kasar biji srikaya dari Badung adalah 17,10 ppm sedangkan LC_{50} ekstrak biji srikaya dari Buleleng adalah 16,12 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak hasil partisi etil asetat biji srikaya memiliki efek toksik terhadap larva *Aedes aegypti* dan dapat digunakan sebagai larvasida.

Kata Kunci: partisi, aktivitas larvasida, srikaya, *Aedes aegypti*, LC_{50}

1. Pendahuluan

Aedes aegypti berperan besar dalam transmisi penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang sudah menjadi endemic sejak tahun 1968. Kementerian Kesehatan RI (2010) menyebutkan data dari seluruh dunia menunjukkan Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita DBD setiap tahunnya. Abate dan insektisida sintesis lainnya sering digunakan untuk mengendalikan populasi *Aedes aegypti*. Penggunaan dari bahan sintesis ini menyebabkan berbagai permasalahan, contohnya polusi lingkungan, *resistance* dan *cross-resistance* dari *Aedes aegypti*, serta peluang keracunan pada manusia. Oleh karena itu, penemuan bahan alam yang ramah lingkungan untuk mengendalikan vektor DBD semakin gencar dilaksanakan.

Famili annonaceae menarik banyak perhatian sejak tahun 1980 akibat kandungan acetogenin dalam tumbuhan ini dimana memiliki banyak aktivitas biologi, salah satunya aktivitas insektisida yang sangat baik (Ocampo dan Ocampo dalam Sánchez, dkk, 2010). Srikaya (*Annona squamosa*), sebagai salah satu spesies dari famili ini mengandung bahan alam yang bersifat toksik bagi larva nyamuk.

Mehra dan Hiradhar (2000) melaporkan ekstrak acetone biji *Annona squamosa* memiliki aktivitas larvasida terhadap larva dan pupa dari *Culex quinquefasciatus*. Aktivitas larva pada *Annona squamosa* dilaporkan efektif terhadap *Anopheles stephensi* dan nyamuk lainnya (Kaushik & Saini, 2009).

Kemudian, ekstrak heksana daun *Annona squamosa* menunjukkan LC₅₀ 145,39 ppm terhadap larva nyamuk (Bagavan, 2009).

Annona squamosa biasanya dikonsumsi secara langsung ataupun dibuat menjadi selai yang tentunya menghasilkan banyak limbah biji. Limbah biji *Annona squamosa* sangat potensial untuk dikembangkan menjadi larvasida untuk *Aedes aegypti*. Namun sejauh ini belum ada penelitian mengenai aktivitas larvasida ekstrak etanol biji *Annona squamosa*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol biji tersebut terhadap larva *Aedes aegypti*.

2. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji *Annona squamosa*, etanol 95%, aquades, dan kertas saring adalah. Alat yang digunakan antara lain alat maserasi, *rotary evaporator* vakum, blender, botol uji, dan pipet tetes.

Sampel biji *Annona squamosa* dikumpulkan dari dua lokasi berbeda, yakni Desa Ungasan, Badung dan Desa Banjar Tegal, Buleleng. Biji dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama seminggu dan kemudian dikupas hingga memperoleh bagian dalam biji yang berwarna putih. Larva *Aedes aegypti* diperoleh dari koloninya di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana yang merupakan hasil pengembangan dari *Aedes aegypti* yang sudah disteril.

Maserasi Biji Srikaya

Sebanyak 100 gram biji *Annona squamosa* yang sudah berbentuk bubuk, dimaserasi dengan 1 L etanol 95% selama 3 hari dan kemudian disaring dengan kertas saring. Residu dimaserasi lagi sebanyak sekali. Filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan *rotary evaporator* vakum pada suhu 40° dan tekanan 175 mbar (etanol) dan 75 mbar (air).

Partisi Ekstrak Kasar

Ekstraks kasar dilarutkan dalam 50 mL air dan dipartisi dengan etilasetat 100 mL dua kali. Fraksi etilasetat digabung, dan dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat selama 1 jam, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* vakum pada suhu 40°C dan tekanan 240 mbar, sehingga diperoleh residu yang pekat. Residu yang diperoleh ditimbang dan ditentukan rendemennya.

Bioassay Larva *Aedes aegypti*

Larva bioassay untuk uji larvasida dilakukan dengan mengikuti metode standar WHO (2005). Larutan induk (1000 ppm) dibuat dengan melarutkan 250 mg ekstrak dalam 1 mL etanol, kemudian ditambahkan aquades hingga menjadi larutan 250 mL. Kemudian larutan induk ini diencerkan menjadi tujuh konsentrasi berbeda (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm). Aquades digunakan sebagai kontrol (0 ppm). Sebanyak 25 larva *Aedes aegypti* instar tiga ditransfer ke botol uji yang masing-masing mengandung 100 mL larutan uji. Pengamatan hasil uji larvasida dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah kematian larva pada masing-masing kelompok perlakuan. Pengulangan diterapkan untuk masing-masing konsentrasi. Mortalitas larva kemudian dimasukkan ke analisis probit untuk menghitung LC₅₀. Analisis ini dilakukan dengan fungsi liner di *Microsoft Excel*.

3. Hasil dan Pembahasan

Partisi dengan pelarut etilasetat dari ekstrak kasar biji srikaya bertujuan untuk menghasilkan ekstrak yang kaya akan asetogenin. Rendemen hasil partisi diberikan pada Tabel 1. Setelah diperoleh ekstrak hasil partisi, selanjutnya dilakukan *bioassay* larva. Tabel 2 memperlihatkan nilai mortalitas pada masing-masing ekstrak hasil partisi etilasetat.

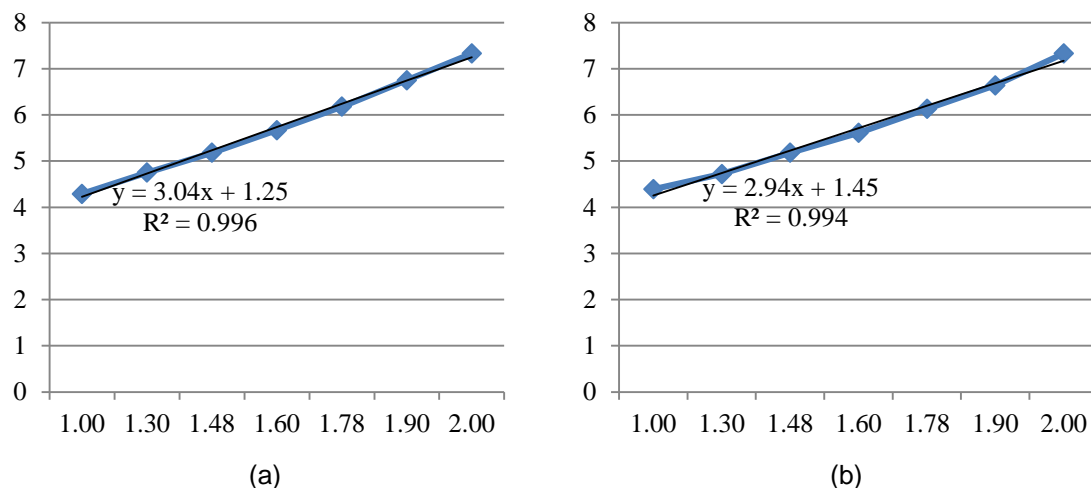
Tabel 1. Persentase rendemen hasil partisi.

AsalSrikaya	Massa ekstrak (gr)	Persentase
Badung	9,67	9,67 %
Buleleng	9,60	9,60%

Tabel 2. Aktivitas Larvasida Ekstrak Hasil Partisi Biji Srikaya

Ekstrak Partisi Biji Srikaya dari Badung					Ekstrak Partisi Biji Srikaya dari Buleleng				
C (ppm)	log C	M	% M	P	C (ppm)	log C	M	% M	P
0	0	0	0		0	0	0	0	
10	1.00	6.0	24.0	4.29	10	1.00	6.7	26.8	4.39
20	1.30	10.0	40.0	4.75	20	1.30	9.7	38.8	4.72
30	1.48	14.3	57.2	5.18	30	1.48	14.3	57.2	5.18
40	1.60	18.7	74.8	5.67	40	1.60	18.3	73.2	5.61
60	1.78	22.0	88.0	6.18	60	1.78	21.7	86.8	6.13
80	1.90	24.0	96.0	6.75	80	1.90	23.7	94.8	6.64
100	2.00	24.7	98.8	7.33	100	2.00	24.7	98.8	7.33

Ekstraketanol biji *Annona squamosa*, baik yang dari Badung maupun Buleleng memperlihatkan efektoksik pada larva setelah 24 jam perlakuan. Efek ini terlihat jelas dari tingkah laku larva yang mulai lambat bergerak, gagal mencapai permukaan akhir, hingga akhirnya mati. Dalam analisis probit, log konsentrasi diplot dengan nilai probit yang diperoleh dari persen mortalitas. Selanjutnya LC₅₀ dihitung dari antilog pada saat kematian sebesar 50% berdasarkan fungsi grafik linier. Gambar 1 memperlihatkan grafik korelasi antara log konsentrasi dan probit.



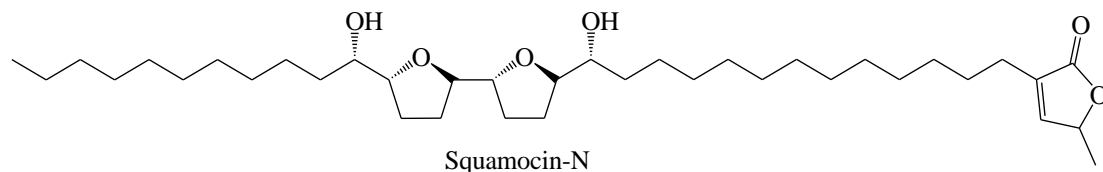
Gambar 1. Korelasi antara probit dan log konsentrasi ekstrak biji *Annona squamosa* Badung (a) dan Buleleng (b).

Berdasarkan analisis probit, nilai LC₅₀ pada ekstrak hasil partisi etil asetat dari ekstrak kasar biji *Annona squamosa* Badung adalah 17,10 ppm sedangkan ekstrak biji *Annona squamosa* Buleleng adalah 16,12 ppm.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji *Annona squamosa* Badung memiliki nilai LC₅₀ sedikit lebih tinggi dari pada biji *Annona squamosa* Buleleng. Persentase rendemen ekstrak hasil partisi biji *Annona squamosa* Badung sebesar 9,67%, hampir sama dengan ekstrak hasil partisi biji *Annona squamosa* Buleleng yang sebesar 9,60%.

Variasi geografi dan perbedaan sensitifitas larva yang digunakan dapat menjadi penyebab perbedaan nilai LC_{50} . Hal yang samajugadilaporkan oleh Johnson, dkk (1996) yang menemukan variasi ekstrak *Asiminatriloba*. Pada dasarnya bahan alam dipengaruhi oleh lingkungan, (contohnya, tipe tanah, nutrisi tanah, suhu, kelembaban) dan juga factor genetic (Leatemia & Isman, 2004). Namun, studi ini tidak meneliti data lingkungan yang spesifik dari mana perbedaan LC_{50} dan rendemen ini dapat disimpulkan.

Hasil review berbagai jurnal internasional, senyawa murni memiliki $LC_{50} \leq 200$ ppm agar bisa disimpulkan aktif terhadap larva, sedangkan ekstrak kasar disimpulkan memiliki aktivitas larva jika $LC_{50} \leq$



Gambar 2. Struktur Squamocin-N

1000 ppm. Omena dkk (2007) melaporkan nilai LC_{50} ekstrak etanol akar *Annona squamosal* terhadap larva *Aedes aegypti* sebesar 31.9 ppm sedangkan ekstrak daun *Annona squamosal* menunjukkan LC_{50} sebesar 169 ppm. Bagavan dkk (2009) melaporkan ekstrak kloroform dan etilasetat daun *Annona squamosal* memiliki nilai LC_{50} sebesar 63.81 ppm dan 60.01 ppm. Ekstrak heksana daun *Annona squamosal* memiliki LC_{50} sebesar 145.39 ppm. Jika dikomparasi, ekstrak hasil partisi etilasetat dari ekstrak kasar biji srikaya menyebabkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun dan akar karena memiliki nilai LC_{50} yang lebih rendah.

Komponen bioaktif yang bertanggungjawab pada sifat toksik biji *Annona squamosal* adalah acetogenin. Efek larvasidasquamocin, salah satu acetogenin yang diisolasi dari biji srikaya, menunjukkan LC_{50} sebesar 6,4 ppm pada *Aedes aegypti* (Costa, dkk, 2014). Acetogenin adalah metabolit sekunder dari family Annonaceae dengan karakteristik rantai alifatik panjang dengan gugus hidroksil dan terminal cincin γ -lactone dengan 1 – 3 cincin tetrahydrofuran (Alali, dkk, 1999). Dilihat dari struktur senyawa, acetogenin bersifat polar. Oleh kerennanya, diperlukan pelarut yang bersifat polar untuk mengekstrak acetogenin. Inilah mengapa ekstrak srikaya yang menggunakan pelarut polar menghasilkan LC_{50} yang lebih tinggi dibandingkan nonpolar.

Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji srikaya memiliki efek toksik terhadap larva *Aedes aegypti*. Selain itu, komponen bioaktif pada ekstrak biji srikaya tidak menghasilkan residu beracun bagi lingkungan (Begum, dkk, 2013) sehingga dapat digunakan sebagai larvasida *Aedes aegypti* yang ramah lingkungan.

4. Simpulan

Berdasarkan analisis probit, nilai LC_{50} ekstrak biji srikaya Badung adalah 17,10 ppm sedangkan LC_{50} ekstrak biji Srikaya dari Buleleng adalah 16,12 ppm. Ini menunjukkan bahwa biji srikaya memiliki efek toksik terhadap larva *Aedes aegypti* dan dapat digunakan sebagai larvasida.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditunjukkan kepada staf dan laboran Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang membantu dan memberi banyak saran selama bioassay larva.

Daftar Pustaka

- Alali, F. Q., Liu, X.-X., & McLaughlin, J. L. (1999). Annonaceous Acetogenin: Recent Progress. *J. Nat. Prod.*, 62, 504-540.
- Bagavan, A. (2009). Adulticidal and larvicidal Efficacy of Some Medicinal Plant Extracts against Tick, Fluke, and Mosquitoes. *Journal of Veterinary Parasitology*, Volume 166, 286-292.

- Begum, N., Sharma, B., & Pandey, R. S. (2013). Calotropis procera and Annona squamosa: Potential Alternatives to Chemical Pesticides. *British Journal of Applied Science & Technology*, Vol. 3(2), 254-267.
- Costa M.S., Cossolin J.F.S., Pereira M.J.B., Sant'Ana A.E. G., Lima M.D., Zanuncio J.C., Serrão J.E. (2014). Larvicidal and Cytotoxic Potential of Squamocin on the Midgut of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Toxins*, 6, 1169-1176.
- Johnson, H.A., Gordon, J. and McLaughlin, J.L. (1996). Monthly variations in biological activity of *Asimnatriloba*. in: Janick, V.J. [Ed.] Progress in New Crops. *Proc. Third National New Crops Symp.* (1995, Indianapolis, IN, USA), pp. 609-613.
- Kaushik, R., & Saini, P. (2009). Screening of Some Semi-Arid Region Plants for Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* Mosquitoes. *J Vector Borne Disri*, 244-246.
- Leatemia, J.A, & Isman, M.B. (2004). Insecticidal Activity of Crude Seed Extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* Against Lepidopteran Larvae. *Phytoparasitica* 32 (1), 30-37
- Mehra, B.K., & Hiradhar, P.K. (2000). Effect of Crude Acetone Extract of Seeds of *Annona squamosa* Linn. on Possible Control Potential Against Larva *Culex quinquefasciatus*. *Journal Entomol Res. Volume 24(2)*, 141-146.
- Omena de C., Navarro D.M.A.F, Paula de J.E., Ferreira de Lima J.S.M.R, Sant'Ana A.E.G. (2007). Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technol*, 2549-2556.
- Sánchez, C., Osornio, J., & Herrera, D. (2010). Secondary Metabolites of The Annonaceae, Solanaceae, and Meliceae Families Used as Biological Control of Insects. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12, 445 -462.
- WHO. (2005). Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides. *WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13*, 8-11.