

## Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Biji Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap Larva *Aedes aegypti*

Ni Putu Wulan Romianingsih, I Wayan Muderawan

Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja

wulanromia@gmail.com

### Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  (lethal concentration) dari ekstrak etanol biji srikaya (*Annona squamosa*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Sampel biji *Annona squamosa* dikumpulkan dari Desa Pringgabaya, Lombok dan Desa Ungasan, Bali. Biji *Annona squamosa* yang sudah kering kemudian digerus dan dimaserasi sebanyak dua kali dengan etanol 95% selama 3 hari. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator vakum. Ekstrak biji *Annona squamosa* yang diperoleh adalah sebesar 16,1998% untuk srikaya Bali dan 14,0615% untuk srikaya Lombok. Ekstrak 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 etanol biji *Annona squamosa* dari Lombok adalah 25,37 ppm sedangkan  $LC_{50}$  ekstrak biji Srikaya dari Bali adalah 28,64 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa biji *Annona squamosa* memiliki efek toksik terhadap larva *Aedes aegypti* dan dapat digunakan sebagai larvasida.

Kata kunci: aktivitas larvasida, *Annona squamosa*, *Aedes aegypti*,  $LC_{50}$

### Abstract

This study aims to determine the  $LC_{50}$  (lethal concentration) of custard apple (*Annona squamosa*) seeds extract against *Aedes aegypti* larvae. The seeds were collected in Pringgabaya village, Lombok and Ungasan village, Bali. 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, giving a yield of 16.1998% for seeds collected in Bali and 14.0615% for those collected in Lombok. The crude extracts were taken for larval bioassay against third instar *Aedes aegypti* larvae. The larvicidal activity was observed after 24 hours exposure by calculating the mortality of larvae in each concentration. Based on probit analysis, the  $LC_{50}$  of ethanolic seeds extract of *Annona squamosa* collected in Lombok and that in Bali are 25.37 ppm and 28.64 ppm respectively. The result showed that *Annona squamosa* seeds extract is toxic toward *Aedes aegypti* larvae, indicating a potential for developing the extract as a novel larvacide.

Key words: Larvicidal activity, *Annona squamosa*, *Aedes aegypti*,  $LC_{50}$

### 1. Pendahuluan

*Aedes aegypti* berperan besar dalam transmisi penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang sudah menjadi endemik 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 LC<sub>50</sub> 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 LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol biji tersebut terhadap larva *Aedes aegypti*.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 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, Bali dan Desa Pringgabaya, Lombok. 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 pengembangbiakan dari *Aedes aegypti* yang sudah disteril.

### 2.2 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). Proses ini dilakukan di Laboratorium Forensik POLRI Denpasar.

### 2.3 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 LC<sub>50</sub>. Analisis ini dilakukan dengan fungsi liner di Microsoft Excel.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1. Setelah diperoleh ekstrak, selanjutnya dilakukan bioassay larva. Tabel 2 memperlihatkan nilai mortalitas pada masing-masing ekstrak.

Tabel 1. Persentase rendemen

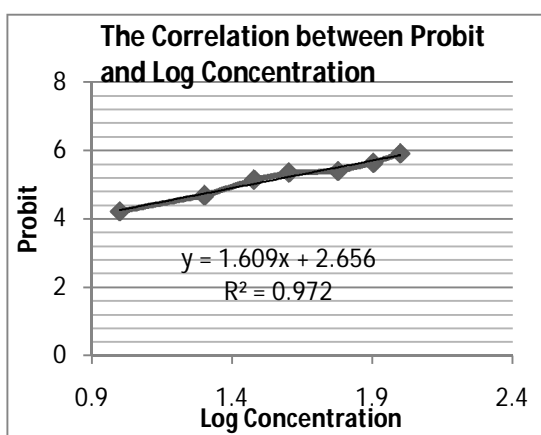
Lokasi	Massa ekstrak (gram)	Persentase
Bali	16,1998	16,1998 %
Lombok	14,0615	14,0615%

Tabel 2. Mortalitas larva setelah 24 Jam

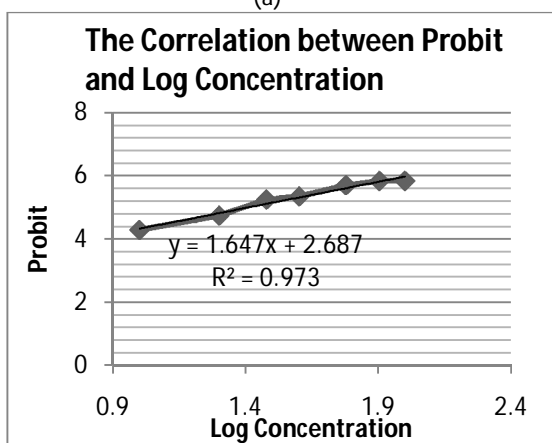
Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	
	Bali	Lombok
0	0	0
10	22	24
20	38	40
30	56	60
40	64	64
60	66	76
80	74	80
100	82	80

Ekstrak etanol biji *Annona squamosa*, baik yang dari Bali maupun Lombok memperlihatkan efek toksik 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 akan diplot dengan nilai probit yang diperoleh dari persen mortalitas. Selanjutnya  $LC_{50}$  dihitung dari antilog pada saat kematian sebesar 50% berdasarkan fungsi liner grafik. Gambar 1 memperlihatkan grafik korelasi antara log konsentrasi dan probit.



(a)



(b)

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

Berdasarkan analisis probit, nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak etanol biji *Annona squamosa* Bali adalah 28,64 ppm sedangkan ekstrak biji *Annona squamosa* Lombok adalah 25,37 ppm.

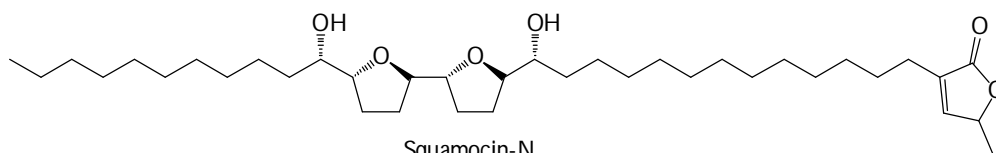
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji *Annona squamosa* Bali memiliki

nilai  $LC_{50}$  lebih tinggi dari pada biji *Annona squamosa* Lombok. Persentase rendemen ekstrak biji *Annona squamosa* Bali sebesar 16,1998%, lebih besar dibandingkan ekstrak biji *Annona squamosa* Lombok yang sebesar 14,0615%.

Variasi geografi dan perbedaan sensitifitas larva yang digunakan dapat menjadi penyebab perbedaan nilai  $LC_{50}$ . Hal yang sama juga dilaporkan oleh Johnson, dkk (1996) yang menemukan variasi ekstrak *Asimina triloba*. Pada dasarnya bahan alam dipengaruhi oleh lingkungan, (contohnya, tipe tanah, nutrisi tanah, suhu, kelembaban) dan juga faktor genetik (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 larvasida jika  $LC_{50} \leq 1000$  ppm. Omena dkk (2007) melaporkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak etanol akar *Annona squamosa* terhadap larva *Aedes aegypti* sebesar 31.9 ppm sedangkan ekstrak daun *Annona squamosa* menunjukkan  $LC_{50}$  sebesar 169 ppm. Bagavan dkk (2009) melaporkan ekstrak kloroform dan etil asetat daun *Annona squamosa* memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 63.81 ppm dan 60.01 ppm. Ekstrak heksana daun *Annona squamosa* memiliki  $LC_{50}$  sebesar 145.39 ppm. Jika dikomparasi, ekstrak biji srikaya menyebabkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun dan akar karena memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih rendah.

Komponen bioaktif yang bertanggung jawab pada sifat toksik biji *Annona squamosa* adalah acetogenin. Efek larvasida squamocin, 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  $\gamma$ -lactone dengan 1 – 3 cincin tetrahydrofuran (Alali, dkk, 1999).



**Gambar 2.** Struktur Squamocin-N

Dilihat dari struktur senyawa, acetogenin bersifat polar. Oleh karenanya, 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 Lombok adalah 25,37 ppm sedangkan  $LC_{50}$  ekstrak biji Srikaya dari Bali adalah 28,64 ppm. Ini menunjukkan bahwa biji srikaya memiliki efek toksik terhadap larva *Aedes aegypti* dan dapat digunakan sebagai larvasida.

#### 5. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditunjukkan kepada Bapak Masyur, S.Si selaku pengelola Laboratorium Forensik POLRI Denpasar yang sudah banyak membantu dalam evaporasi sampel. Tak lupa juga terima kasih ditunjukkan kepada staf dan laboran Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang membantu dan memberi banyak saran selama bioassay larva.

#### 6. 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 *Asimina triloba*. 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. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technol* 2007, 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.