

Uji Efikasi Ekstrak Heksan Daging Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Pertumbuhan Larva Lalat *Chrysomya bezziana* secara *In Vitro*

APRIL H. WARDHANA¹, E. WIDYASTUTI², A. W. A. WIRATMANA³, S. MUHARSINI¹ dan DARMONO¹

¹Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta

³Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya

(Diterima dewan redaksi 1 Nopember 2004)

ABSTRACT

WARDHANA, A. H., E. WIDYASTUTI, A. W. A. WIRATMANA, S. MUHARSINI and DARMONO. 2004. Efficacy test of hexane extract of *Annona squamosa* L seeds for *Chrysomya bezziana* larvae growth *in vitro*. *JITV* 9(4): 272-280.

Chrysomya bezziana is primer agent causing myiasis in livestock and human throughout Africa to Asia. At present, treatment of myiasis using chemical synthetic insecticide causing environment and livestock production contaminations. The aim of this study was to evaluate the effect of hexane extract of *Annona squamosa* L seed to kill *C. bezziana* as botanical insecticide. Three level and method preparation of larvae (L1, L2 and L3) were carried out. Meat blood mixture (MBM) and larval rearing media (LRM) were mixed with hexane extract of *A. squamosa* L seed and tested to 625 and 750 larvae (L1 and L2 respectively), while for L3 625 larvae were soaked in the solution containing the hexane extract. This last preparation was carried out to observe the effect of toxic contact. Each larvae treatment was divided into 5 levels such as negative control using distillation water (PO), given 0.25% hexane extract (P I); 0.50% (P II); 0.75% (P III) and positive control was given with 0.10% Asuntol[®]. This assay was to know digest toxic effect of hexane extract of *A. squamosa* L seed for those larvae. Number of 625 instar III larvae (L3) was soaked in the solution containing the hexane extract of *A. squamosa* L seed for 10 second, placed into vermicullite and incubated on 36°C. This assay was to know contact toxic effect of them. All of larvae were allowed to become pupae. Parameters observe were number of larvae death, pupae weight and number of pupae become into fly. The data was analyzed using Anova (5%) and Z test (5%) then smallest significant difference test (BNT 5%). The results showed that 0.50% of hexane extract of *A. squamosa* L seed was able to decrease pupae weight for L1 and L2 and to cause fail pupae become fly (P<0.05). Instar III larvae (L3) soaked in PI until P III and not effect to pupae weight, pupae become fly and survival of adult flies (P>0.05).

Key words: *Chrysomya bezziana*, myiasis, srikaya, *A. squamosa* L, *in vitro*

ABSTRAK

WARDHANA, A. H., E. WIDYASTUTI, A. W. A. WIRATMANA, S. MUHARSINI dan DARMONO. 2004. Uji efikasi ekstrak heksan daging biji srikaya (*Annona squamosa* L) terhadap pertumbuhan larva lalat *Chrysomya bezziana* secara *in vitro*. *JITV* 9(4): 272-280.

Lalat *Chrysomya bezziana* merupakan agen primer penyebab myiasis pada ternak dan manusia yang tersebar mulai dari Afrika sampai Asia. Selama ini upaya pengendalian myiasis menggunakan insektisida sintesis terbukti berdampak negatif pada lingkungan dan produk asal ternak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak heksan daging biji srikaya (*Annona squamosa* L) terhadap larva *C. bezziana* sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai insektisida botanis. Stadium larva yang digunakan adalah larva instar I (L1), L2 dan L3. Masing-masing stadium larva dibagi menjadi 5 perlakuan, yaitu kontrol negatif dengan air suling (P 0), ekstrak heksan daging biji srikaya dengan konsentrasi 0,25% (P I), 0,50% (P II), 0,75% (P III) dan kontrol positif (Asuntol[®] 0,10%). Semua perlakuan dicampur pengemulsi. Ekstrak heksan daging biji srikaya diujikan pada 625 larva instar I (L1) dan 750 larva instar II (L2) untuk mengetahui efek racun perut dengan cara mencampur ekstrak heksan daging biji srikaya pada media *meat-blood mixture*/MBM (L1) dan *larval rearing media*/LRM (L2). Sebanyak 625 larva instar III (L3) digunakan untuk mengetahui efek racun kontak dengan cara merendamnya ke dalam larutan ekstrak selama 10 detik, selanjutnya diinkubasi dalam *vermicullite* pada suhu 36°C. Semua larva diamati perkembangannya hingga menjadi pupa. Parameter yang diamati adalah jumlah larva yang mati, bobot pupa dan jumlah pupa yang menetas menjadi lalat. Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova dan uji Z dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 0,50% pada media L1 dan L2 mampu menurunkan bobot pupa dan menggagalkan penetasan pupa menjadi lalat (P<0,05). Perendaman L3 pada PI hingga PIII tidak berpengaruh terhadap bobot pupa, daya tetas pupa serta daya hidup lalat dewasa (P>0,05).

Kata kunci: *Chrysomya bezziana*, myiasis, srikaya, *Annona squamosa* L, *in vitro*

PENDAHULUAN

Lalat *Chrysomya bezziana* merupakan agen primer penyebab myasis (belatungan), yaitu infestasi larva lalat pada jaringan tubuh hewan dan manusia. Lalat ini tersebar luas di Afrika tropis dan subtropis, subkontinen India dan Asia Tenggara termasuk Malaysia, Philipina, Papua New Guinea termasuk Indonesia (SUTHERST *et al.*, 1989; SUKARSIH *et al.*, 1989). Berbeda dengan jenis lalat myasis lainnya, larva *C. bezziana* mutlak memerlukan jaringan hidup untuk pertumbuhannya atau bersifat obligat parasit. Akibatnya, ternak mengalami penurunan bobot hidup dan produksi susu, kerusakan jaringan, infertilitas serta anemia. Apabila tidak diobati, myasis dapat menyebabkan kematian ternak sebagai akibat keracunan kronis ammonia (HUMPHREY *et al.*, 1980; GUERRUNI, 1988; SPRADBERRY, 1991; BARHOOM *et al.*, 1998).

Kasus myasis masih menjadi ancaman yang serius pada daerah-daerah kantung ternak seperti di Sulawesi Selatan dan Sumba Timur (WARDHANA *et al.*, 2003a). Kasus lainnya juga dilaporkan di Sumbawa, Pulau Lombok, Kediri, Yogyakarta dan Bali bahkan angka prevalensinya di daerah Minahasa mencapai 20% (SUKARSIH *et al.*, 1989; SUNARYA, 1998). Disamping menyerang ternak, kasus myasis juga dilaporkan terjadi pada manusia dengan predileksi di daerah faring, hidung, telinga dan bibir (JOE *et al.*, 1957; MANGUNKUSUMO dan UTAMA, 1999).

Umumnya insektisida sintetis digunakan untuk pengendalian dan pemberantasan myasis pada ternak di lapang. Namun, pada tahun 1997 pemerintah melarang penggunaan sejumlah insektisida dan mencabut subsidi sehingga harga insektisida menjadi sangat mahal. Kebijakan pemerintah tersebut didasarkan pada hasil beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa penggunaan insektisida sintetis terbukti menimbulkan dampak negatif seperti keracunan pada manusia dan ternak peliharaan, polusi lingkungan, berkembangnya ras hama yang resisten, munculnya hama sekunder, serta terbunuhnya musuh alami hama dan hewan yang bukan sasaran (BALK dan KOEMAN, 1984; METCALF, 1986; KARDINAN, 2000). Keadaan ini menjadi faktor pendorong pencarian insektisida alternatif sebagai pengganti insektisida sintetis, misalnya dengan menggunakan insektisida botanis (PRIJONO, 1994; KARDINAN, 2000).

Sebenarnya, penggunaan insektisida botanis telah lama digunakan oleh para petani peternak untuk mengendalikan hama suatu penyakit. Lebih dari 650 jenis tumbuhan berkhasiat sebagai insektisida. Secara tradisional, penggunaan bahan insektisida asal tumbuhan di Indonesia dan di negara berkembang lainnya, diaplikasikan dalam berbagai bentuk sediaan seperti penggerusan, penumbukan, pembakaran atau

pengepresan (HEYNE, 1987; PRIJONO dan TRIWIDODO, 1994; KARDINAN, 2000).

Salah satu tanaman yang cukup potensial untuk dimanfaatkan sebagai sumber insektisida botanis adalah srikaya (*Annona squamosa* L.). Senyawa aktif utama dalam biji srikaya adalah annonain dan skuamosin yang tergolong senyawa asetogenin (LEATEMIA dan ISMAN, 2001; LONDRSHAUSEN *et al.*, 1991a). Senyawa asetogenin dari kelompok annonaceae dilaporkan mempunyai toksisitas yang cukup efektif terhadap serangga dari beberapa ordo seperti Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera dan Diptera (LI *et al.*, 1990; LONDRSHAUSEN *et al.*, 1991b; MITSUI *et al.*, 1991). Laporan lainnya menyebutkan bahwa *annonain* dan *retikulin* yang berasal dari kelompok *Annonaceae* bersifat akarisisida (TJOKRONEGORO, 1987).

Biji buah srikaya mempunyai kandungan lemak yang cukup tinggi, yaitu 42-45% (KARDINAN, 2000). Pelarut heksan merupakan senyawa non polar yang mampu melarutkan lemak dan senyawa-senyawa lipofilik lainnya dalam suatu bahan/organisme. Pengaruh pemberian ekstrak heksan daging biji srikaya terhadap pertumbuhan larva *C. bezziana* belum pernah dilaporkan. Melihat potensi biji srikaya sebagai insektisida botani maka perlu diuji secara ilmiah sehingga dapat dikembangkan menjadi salah satu bahan alternatif insektisida yang ramah lingkungan.

MATERI DAN METODE

Sampel larva *C. bezziana*

Koloni larva *C. bezziana* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Entomologi, Departemen Parasitologi, Balai Penelitian Veteriner (Balitvet), Bogor, Indonesia. Koloni tersebut dipelihara berdasarkan metode SUKARSIH *et al.* (2000).

Koleksi daging biji srikaya

Buah srikaya dikoleksi dari Solo, Jawa Tengah. Biji yang berwarna hitam atau coklat tua dipisahkan dari buahnya yang sudah matang dan diangin-anginkan sampai kering selama 7 hari. Biji-biji tersebut dikupas kulitnya sehingga diperoleh daging biji srikaya, selanjutnya dihancurkan sampai menjadi serbuk menggunakan *blender*. Serbuk daging biji srikaya dipersiapkan untuk diekstraksi dengan pelarut heksan (PRIJONO, 1994).

Pembuatan ekstrak heksan daging biji srikaya

Sebanyak 150 g serbuk daging biji srikaya dan 250 ml heksan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berukuran 500 ml kemudian diaduk menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam. Campuran serbuk daging

biji srikaya dan heksan disaring sehingga diperoleh supernatan. Ampasnya dicampur 250 ml heksan dan diaduk selama 1 jam. Larutan tersebut disaring lagi dan ditampung ke dalam labu Erlenmeyer bercampur dengan hasil saringan pertama (PRIJONO, 1994).

Supernatan yang diduga mengandung bahan aktif biji srikaya dipindahkan ke dalam labu *evaporator*, selanjutnya diuapkan dengan suhu 40°C. Proses ekstraksi dihentikan setelah semua senyawa heksan menguap. Hasil ekstrak yang diperoleh berwarna kuning transparan sebanyak 60 ml.

Pembuatan media *meat-blood mixture* (MBM)

Sebanyak 250 mg daging sapi segar digiling dan dicampurkan dengan 30 ml darah sapi segar hingga homogen. Media MBM harus digunakan dalam keadaan segar (SUKARSIH *et al.*, 2000). Media ini digunakan untuk larva instar I (L1) yang baru menetas dari telur.

Pembuatan *larval rearing media* (LRM)

Sebanyak 450 g darah sapi beku (marus) digiling menggunakan blender hingga homogen. Empat puluh lima gram susu skim, 45 g tepung telur (*Summy Queen Product*), 18 g *Watterlock Polymer (Grain Processing Corp)*, 1,5 ml formalin 10% dan 645 ml air suling ditambahkan dan dicampur hingga homogen. Hasil yang diperoleh sekitar 1120 g berbentuk gel dan digunakan sebagai media pertumbuhan L2 hingga L3 (SUKARSIH *et al.*, 2000).

Perlakuan

Ekstrak daging biji srikaya dilarutkan dalam air suling dengan menambahkan pengemulsi sehingga homogen. Pengemulsi yang digunakan untuk uji *in vitro* L1 dan L2 adalah Tween 20 0,2% sedangkan untuk L3 digunakan Triton 0,1%. Uji *in vitro* dilakukan pada tiga jenis instar larva yaitu, 625 L1 (25 x 5 x 5), 750 L2 (30 x 5 x 5) dan 625 L3 (25 x 5 x 5). Masing-masing instar menerima 5 perlakuan dengan 5 ulangan per perlakuan sebagai berikut:

- P0 : Air suling steril + pengemulsi
- PI : Ekstrak heksan daging biji srikaya 0,25% + pengemulsi
- PII : Ekstrak heksan daging biji srikaya 0,50% + pengemulsi
- PIII : Ekstrak heksan daging biji srikaya 0,75% + pengemulsi
- PIV : Asuntol® 0,1%

Uji *in vitro* pada L1

Media MBM digunakan untuk uji ini dan diletakkan di dalam kontainer plastik berukuran 18,5 x 13,5 x 4,5 cm. Media tersebut dicampur dengan ekstrak heksan daging biji srikaya dalam berbagai konsentrasi. Media LRM yang mengandung ekstrak heksan daging biji srikaya ditempatkan di samping media MBM. Sejumlah 25 L1 per ulangan diletakkan di atas media dan diinkubasi pada suhu 36°C (lihat perlakuan). Larva yang masih hidup sampai hari ke-2 dipindahkan ke kontainer plastik dan ditambahkan media LRM hingga penuh. Larva yang hidup dipelihara dan diamati hingga kemudian ditimbang bobot pupanya pada hari ke-9 pasca perlakuan.

Uji *in vitro* pada L2

Media yang digunakan untuk uji ini adalah LRM yang telah dicampur dengan ekstrak heksan daging srikaya dalam berbagai konsentrasi. Sebanyak 215 g LRM diisikan ke dalam masing-masing kontainer plastik yang berukuran 18,5 x 13,5 x 4,5 cm. Sejumlah 30 L2 per ulangan diinfestasikan pada media tersebut dan diamati perkembangannya hingga menjadi pupa (lihat perlakuan). Penimbangan bobot pupa dilakukan pada hari ke-7 pasca perlakuan.

Uji *in vitro* pada L3

Uji ini dilakukan di dalam pot obat yang berisi ekstrak heksan daging biji srikaya dengan konsentrasi tertentu. Sebanyak 25 L3 (per ulangan) direndam ke dalam larutan ekstrak selama 10 detik, kemudian ditiriskan menggunakan saringan alumunium (lihat perlakuan) dan diletakkan di atas kertas saring, selanjutnya dipindahkan ke dalam kontainer plastik yang berisi *vermiculite*. Larva-larva tersebut diinkubasi pada suhu 36°C sampai menjadi pupa. Penimbangan bobot pupa dilakukan pada hari ke-5 pasca perlakuan (SPRADBERY *et al.*, 1983).

Parameter dan analisis data

Parameter yang diamati pada uji ini adalah jumlah kematian larva, bobot pupa dan daya tetasnya menjadi lalat. Daya tahan hidup lalat *C. bezziana* diamati setiap hari pada uji L3. Data bobot pupa dianalisis dengan ANOVA (5%) sedangkan data kematian larva, daya tetas dan daya tahan hidup dianalisis dengan uji Z (5%). Kedua uji ini dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%). Semua data tersebut dianalisis menggunakan program STAT versi 2,6 (SANTOSO *et al.*, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh ekstrak heksan daging biji srikaya terhadap L1

Permukaan media MBM cenderung mengering pasca inkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C. Larva instar I banyak ditemukan di bagian bawah media tersebut dan bergerombol di sudut kotak plastik. Keadaan ini diduga karena pada bagian bawah media merupakan kondisi yang sesuai untuk perkembangan larva, yaitu tingkat kelembaban dan kelembaban yang cukup tinggi. Semua L1 pada PII, P III dan PIV mati sedangkan larva yang masih hidup pada PI mencapai 7,53% (1,4/18,6) dibandingkan dengan P0. Larva-larva tersebut dipelihara sampai menjadi pupa.

Hasil penimbangan bobot pupa dapat dilihat pada Tabel 1. Bobot pupa antara P0 dan PI menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). Hasil ini mengindikasikan bahwa larva *C. bezziana* masih mampu mentolerir toksisitas ekstrak heksan daging biji srikaya pada konsentrasi 0,25%, tetapi mengalami kematian pada konsentrasi 0,50 dan 0,75%.

Tabel 1. Nilai rata-rata dan simpangan jumlah L1 *C. bezziana* yang hidup serta bobot pupanya sampai hari ke-9 pasca perlakuan

| Perlakuan | Jumlah larva yang hidup ± SD | Bobot pupa (mg) ± SE |
|-----------|------------------------------|---------------------------|
| P 0 | 18,6 ± 1,89 | 24,53 ^a ± 1,73 |
| P I | 1,4 ± 0,51 | 11,42 ^b ± 2,21 |
| P II | Mati | Mati |
| P III | Mati | Mati |
| P IV | Mati | Mati |

Superskrip a dan b pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Pengaruh ekstrak heksan daging biji srikaya terhadap L2

Pengujian pengaruh ekstrak heksan daging biji srikaya terhadap L2 berbeda dengan perlakuan terhadap L1. Perbedaan ini terletak pada media biakannya, yaitu L2 tidak membutuhkan media MBM. Semua larva yang diuji langsung dipelihara di dalam media LRM yang telah mengandung ekstrak. Hasil rata-rata bobot pupa pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisis statistik menunjukkan perbedaan bobot pupa yang nyata antara PI dan PIII dibandingkan dengan P0 (P<0,05). Meskipun secara statistik PII tidak berbeda nyata (P>0,05) dengan P0 (P>0,05), tetapi

perlakuan ini mampu menurunkan bobot pupa sehingga mempunyai respon yang sama dengan PI. Semua larva pada PIV mengalami kematian sehingga tidak dapat membentuk pupa.

Tabel 2. Nilai rata-rata dan simpangan jumlah L2 *C. bezziana* yang masih hidup serta bobot pupanya sampai hari ke-7 pasca perlakuan

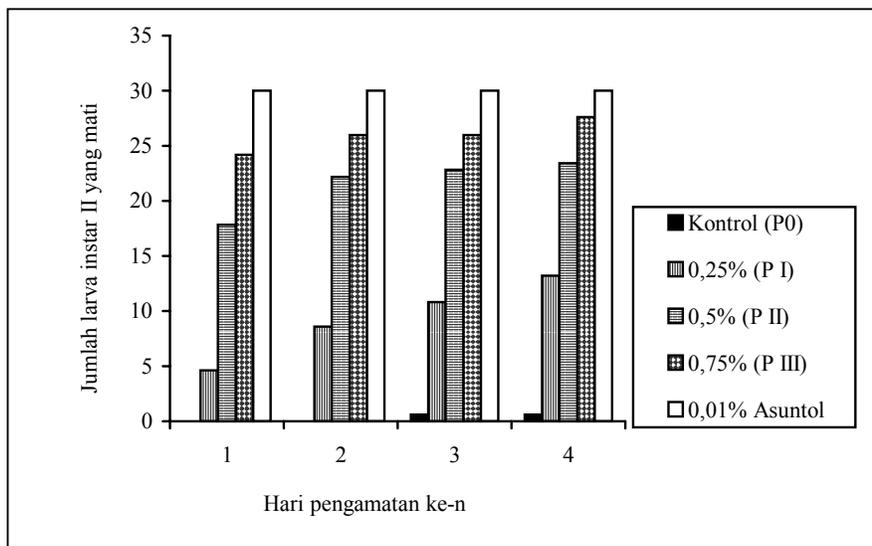
| Perlakuan | Jumlah larva yang hidup ± SD | Bobot pupa (mg) ± SE |
|-----------|------------------------------|----------------------------|
| P 0 | 29,4 ± 0,40 | 30,35 ^a ± 0,41 |
| P I | 16,8 ± 1,24 | 21,68 ^b ± 1,65 |
| P II | 6,6 ± 1,12 | 24,85 ^{ab} ± 1,25 |
| P III | 2,4 ± 0,75 | 14,32 ^c ± 2,56 |
| P IV | Mati | Mati |

Superskrip a, b dan c pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Respon terhadap daya hidup L2 juga diamati hingga hari ke-4 pasca pemeliharaan dalam media LRM yang mengandung ekstrak. Jumlah larva yang mati pada tiap-tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Perlakuan IV mengakibatkan kematian L2 100% pada hari pertama sedangkan jumlah larva yang mati pada PI, PII dan PIII menunjukkan korelasi positif dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Kematian larva pada P0 terjadi pada hari keempat dengan jumlah kurang dari 2%.

Pengamatan terhadap media LRM pada L2 menunjukkan adanya perubahan pasca inkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C. Media pada PI dan PII membentuk gas yang berlebihan dibandingkan dengan media P0, akibatnya media PI dan PII mengembang. Berbeda dengan PI dan PII, media pada PIII dan PIV cenderung mencair dan berbusa. Perubahan media ini diduga karena pengaruh dari ekstrak heksan daging biji srikaya yang memicu pembentukan gas dan busa.

Perubahan media tersebut berakibat pada kelangsungan hidup larva yang berkembang di dalamnya. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak heksan daging biji srikaya dalam media, semakin banyak larva yang mati (Gambar 1). Umumnya larva yang mati pada PI, PII dan PIII dalam keadaan berkontraksi (memanjang) dan berada di permukaan media. Keadaan ini berbeda dengan kematian yang terjadi pada PIV, yaitu larva banyak ditemukan mati di dalam media. Ekstrak heksan daging biji srikaya diduga mempengaruhi pengambilan oksigen oleh larva sehingga larva cenderung naik ke permukaan untuk bernafas.



Gambar 1. Grafik kematian larva instar (L2) *C. bezziana* pada pengamatan hari ke-n yang dipelihara dalam media LRM yang mengandung ekstrak heksan daging biji srikaya pada berbagai konsentrasi

Larva instar II yang tumbuh normal akan mengalami perubahan warna dari putih menjadi merah muda dan ukurannya semakin besar (P0). Perubahan ini tidak terjadi pada PIII, yaitu L2 relatif tidak tumbuh besar dan warna tubuhnya putih pucat. Gerakan larva sangat lambat yang mengindikasikan gejala kurang sehat. Larva pada PI dan PII berwarna merah muda tetapi mempunyai ukuran yang lebih kecil dan lebih kurus dibandingkan dengan P0. Pengamatan ini dibuktikan dengan hasil penimbangan bobot pupa yang menunjukkan bahwa PIII mempunyai bobot yang paling rendah. Perlakuan III mengalami penurunan bobot pupa rata-rata 52,82% sedangkan PI dan PII masing-masing 28,57 dan 18,12%. Penurunan bobot pupa diduga karena bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut sehingga mempengaruhi sistem pencernaan larva dan menyebabkan penyerapan nutrisi tidak optimal.

Dalam perkembangan siklus hidup lalat *C. bezziana*, L2 yang tumbuh menjadi L3 akan keluar dari lokasi sumber nutrisi dan menjatuhkan diri ke tanah. Sebanyak 85,33% larva berhasil keluar dari kotak plastik dan menjatuhkan diri ke dalam *vermiculite* pada hari ketiga (P0). Keadaan ini dikarenakan larva pada P0 dalam kondisi sehat dan mempunyai gerakan yang lincah. Larva pada PI, PII dan PIII tidak mampu melewati pembatas kotak plastik sehingga harus diturunkan secara manual menggunakan pinset.

Larva pada P0 berhasil menyelesaikan metamorfosis secara sempurna, yaitu menjadi lalat dewasa. Perlakuan PI menyebabkan 96% larva gagal menjadi lalat sedangkan pada perlakuan PII, PIII dan PIV kegagalannya mencapai 100%. Hasil-hasil di atas membuktikan bahwa ekstrak heksan daging biji srikaya

mempunyai efek racun cerna terhadap larva *C. bezziana*.

Pengaruh ekstrak heksan daging biji srikaya pada L3

Uji *in vitro* pada L3 ditujukan untuk mengetahui efek racun kontak ekstrak heksan daging biji srikaya terhadap permukaan kulit larva. Hasil penimbangan bobot pupa pasca perendaman dalam larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata dan simpangan jumlah serta bobot pupa *C. bezziana* pasca perendaman larutan yang mengandung ekstrak heksan dalam berbagai konsentrasi selama 10 detik

| Perlakuan | Jumlah pupa ± SD | Bobot pupa (mg) ± SE |
|-----------|------------------|---------------------------|
| P 0 | 25 ± 0,00 | 28,80 ^a ± 0,54 |
| P I | 25 ± 0,00 | 28,70 ^a ± 0,57 |
| P II | 25 ± 0,00 | 29,44 ^a ± 0,28 |
| P III | 25 ± 0,00 | 28,24 ^a ± 0,45 |
| P IV | 25 ± 0,00 | 21,77 ^b ± 0,83 |

Superskrip a dan b pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Pengamatan terhadap daya tetas pupa menjadi lalat dewasa dalam berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Daya tetas pupa pada PIV menunjukkan perbedaan yang nyata antara PI, PII dan PIII dibandingkan dengan P0 ($P < 0,05$).

Semua lalat yang menetas diberi pakan dan minum secara *ad libitum* selama pemeliharaan di sangkar dalam lingkungan yang sama. Daya tahan hidup lalat diamati setiap hari. Lalat yang berasal dari pupa PIV mempunyai daya hidup yang rendah dibandingkan dengan P0, PI, PII dan PIII ($P < 0,05$) (Gambar 3). Perlakuan P0, PI dan PII menunjukkan pola grafik yang hampir sama (Gambar 3). Awal penetasan sampai dengan umur 4 hari, jumlah lalat yang mati relatif sama antara PI, PII dan PIII. Grafik kematian terlihat tinggi pada umur 5 sampai 9 hari, yaitu jumlah lalat yang mati pada PIII meningkat nyata dibandingkan dengan P0, PI, dan PII. Peningkatan ini masih di bawah PIV yang sejak awal mempunyai daya tetas rendah. Jumlah lalat yang mati pada PI dan PII menunjukkan jumlah yang sama dengan PIII pada umur 28 hari. Seluruh lalat mengalami kematian pada umur yang berbeda-beda, yaitu umur 35 hari (P0), 34 hari (PI dan PII), 32 hari (PIII) dan 25 hari (PIV).

Kondisi lingkungan sangat berpengaruh pada L3 dalam tahap puparium. Hasil penimbangan bobot pupa pada larva yang direndam dalam larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi, tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Perlakuan I, PII dan PIII mempunyai bobot yang sama dengan P0 ($P > 0,05$).

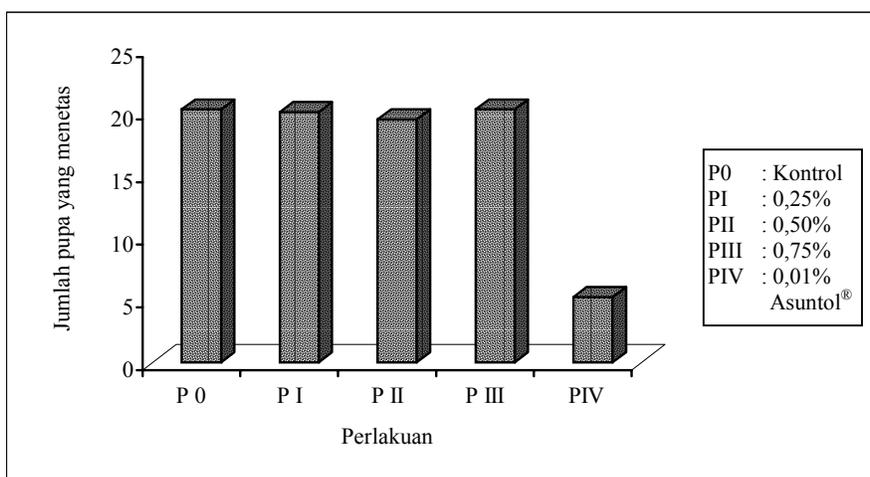
Semua perlakuan mampu membentuk pupa kecuali PIV. Sebanyak 29,6% larva gagal membentuk pupa pada PIV. Jumlah pupa yang menjadi lalat dewasa tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara P0, PI, PII dan PIII ($P > 0,05$). Pupa-pupa pada perlakuan tersebut mempunyai daya tetas sekitar 83,84 dan 20,80% untuk PIV (Gambar 2). Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak

heksan daging biji srikaya tidak berpengaruh pada tahap puparium.

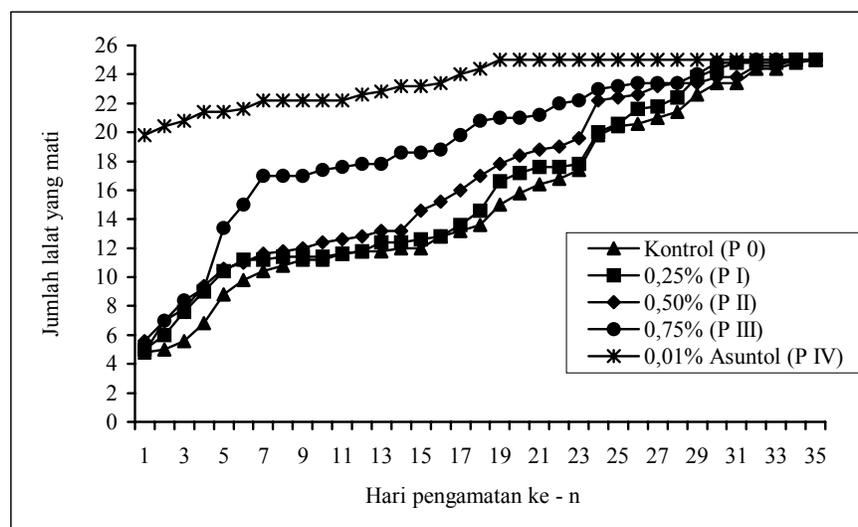
Pengamatan dilanjutkan dengan mengikuti lama waktu hidup lalat yang menetas dari pupa pasca perendaman dalam larutan ekstrak selama 10 detik (Gambar 3). Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa umur lalat *C. bezziana* normal mampu mencapai hingga 35 hari. Data ini berbeda dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa lalat *C. bezziana* mampu bertahan hidup pada kondisi laboratorium sampai umur 24 hari (WARDHANA *et al.*, 2003b).

Semua perlakuan mempunyai daya tetas yang relatif sama kecuali PIV (Gambar 3). Grafik kematian lalat cenderung menunjukkan peningkatan sampai hari ke-35. Perlakuan P0, PI dan PII mempunyai pola yang relatif sama, yaitu terjadi peningkatan kematian dari umur 1 sampai 7 hari diikuti dengan jumlah yang relatif tetap sampai umur 14 hari. Peningkatan kematian terjadi kembali dari umur 15 sampai 29 hari dan relatif tetap sampai umur 31 hari, selanjutnya meningkat lagi sampai umur 35 hari. Hasil ini memberikan gambaran dinamika kehidupan lalat *C. bezziana* yang selama ini belum banyak diketahui.

Hasil uji *in vitro* pada L3 menunjukkan bahwa larva ini lebih tahan terhadap ekstrak heksan daging biji srikaya dibandingkan dengan L1 dan L2. Perbedaan ketahanan ini diduga karena adanya perubahan dalam kutikula (lapisan kulit). Larva instar akhir (L3) mempunyai lapisan kutikula yang lebih tebal dan lebih keras. Disamping itu, pada larva ini terjadi penurunan saluran renik dan kandungan lipida dalam kutikulanya (PRIJONO, 1988). Faktor-faktor di atas dapat menjelaskan tidak adanya efek racun kontak pada L3.



Gambar 2. Daya tetas pupa menjadi lalat dewasa pasca perendaman dalam larutan ekstrak heksan daging biji srikaya dengan berbagai konsentrasi selama 10 detik



Gambar 3. Grafik daya tahan hidup lalat *C. bezziana* pada pengamatan hari ke-n pasca perlakuan L3 yang direndam dalam larutan yang mengandung ekstrak heksan daging biji srikaya selama 10 detik pada berbagai konsentrasi

Tidak adanya efek racun kontak ekstrak daging biji srikaya juga terlihat pada kemampuan larva membentuk pupa, daya tetasnya menjadi lalat dan lamanya daya tahan hidup lalat dewasa. Keadaan ini masih sangat memungkinkan untuk terjadinya perkawinan antara lalat jantan dan betina sehingga tidak dapat mengurangi populasi lalat *C. bezziana* di lapang. Secara normal, lalat betina akan kawin pada umur 4 hari dan mulai bertelur pada umur 6-7 hari (SPRADBERY, 1991; WARDHANA *et al.*, 2003b). Umur lalat pada penelitian ini mampu mencapai 35 hari sehingga sangat memungkinkan untuk berkembang biak.

Berdasarkan hasil-hasil uji pada L1, L2 dan L3 secara *in vitro* membuktikan bahwa ekstrak heksan daging biji srikaya tidak mempunyai efek racun kontak tetapi berpengaruh terhadap saluran pencernaan larva (efek racun cerna). Senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai penghambat pertumbuhan larva adalah annonain dan skuamosin yang merupakan golongan asetogenin.

Mekanisme kerja senyawa aktif ini telah dideteksi sampai taraf molekuler (LONDERSHAUSEN *et al.*, 1991a). Senyawa ini bersifat sitotoksik dan neurotoksik sehingga menimbulkan kematian sel. Apabila senyawa ini kontak atau masuk ke dalam tubuh maka akan menghalangi ikatan enzim NADH dengan sitokrom c-reduktase dan sitokrom kompleks sub unit I yang berada di dalam mitokondria serangga. Mekanisme ini juga telah dibuktikan pada sel hati sapi, yaitu terjadinya hambatan terhadap enzim sitokrom kompleks sub unit I sehingga mengakibatkan pernafasan sel terhenti dan menyebabkan kematian. Penelitian selanjutnya dilakukan dengan cara mengisolasi senyawa aktif golongan asetogenin dari biji srikaya (LONDERSHAUSEN *et al.*, 1991b). Hasil penelitian ini juga membuktikan

bahwa senyawa tersebut sangat berpengaruh terhadap rantai pernafasan sel sehingga bersifat sitotoksik (toksik pada sel).

Penyerapan insektisida yang mempunyai efek racun perut sebagian besar berlangsung dalam mesenteron (saluran pencernaan bagian tengah). Dinding mesenteron tersusun dari sel-sel epitelium yang terdiri dari dua lapis, yaitu senyawa lipida dan protein yang tersebar pada bagian-bagian tertentu dari lapisan lipida tersebut. Secara keseluruhan, selaput sel ini bersifat lipofilik (PRIJONO, 1988).

Ekstrak heksan daging biji srikaya yang diperoleh dalam penelitian ini berbentuk lemak. Bentuk senyawa ini semakin memperkuat dugaan bahwa kematian larva *C. bezziana* yang diuji disebabkan efek racun daging biji srikaya. Senyawa aktif daging biji srikaya yang larut dalam lemak akan mudah terserap oleh sel-sel epitelium dalam mesenteron sehingga menyebabkan kematian sel.

Biji srikaya telah banyak dilaporkan mengandung bahan insektisida dan juga telah diuji pada beberapa hama seperti *Callosobruchus analis* (hama biji kacang hijau) (KARDINAN, 2000), *Pediculus humanus* (kutu kepala) (SOSROMARSONO, 1990), *Plutella xylostella* L. (hama kubis dan lobak) (LEATEMIA dan ISMAN, 2004), kutu anjing (HEYNE, 1987), racun ikan (MORTON, 1987), *Boophilus microplus* (caplak sapi) (MANURUNG dan BERIAJAYA, 2002), *Nilaparvata lugens* (wereng coklat) dan *Crocidolomia binotalis* (ulat kubis) (PRIJONO, 1994).

Bukti-bukti di atas menunjukkan bahwa ekstrak heksan daging biji srikaya mempunyai prospek yang cerah untuk digunakan sebagai insektisida botanis dalam menanggulangi myasis pada ternak. Potensi ini harus digali kembali dengan melakukan uji lanjutan

secara *in vivo*. Ekstrak heksan daging biji srikaya dapat dicobakan pada luka ternak yang mengandung larva secara topikal. Apabila dari uji tersebut berhasil maka biji srikaya dapat dipertimbangkan sebagai insektisida botanis dan dapat diolah dalam skala industri. Insektisida botanis akan sangat membantu masyarakat petani peternak untuk mengembangkan pengendalian hama yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan sumber daya setempat yang terdapat di kebun atau pekarangan rumah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil-hasil pengujian di atas maka disimpulkan bahwa: pemberian ekstrak heksan daging biji srikaya berpengaruh terhadap pertumbuhan larva *C. bezziana* secara *in vitro*. Senyawa aktif ekstrak heksan daging biji srikaya bersifat efek racun perut, yaitu mengganggu penyerapan nutrisi di dalam saluran pencernaan larva sehingga mampu menurunkan bobot pupa. Pemberian dengan konsentrasi 0,50% pada media pertumbuhan L1 dan L2 menyebabkan pupa tidak dapat menetas menjadi lalat. Perendaman L3 selama 10 detik sampai konsentrasi 0,75% tidak berpengaruh terhadap pembentukan pupa dan daya tetas pupa menjadi lalat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Drh. Jose Manurung dan Ibu Dra. Sukarsih M.Sc yang telah menyediakan biji srikaya.

DAFTAR PUSTAKA

- BALK, F. and J. H. KOEMAN. 1984. Future Hazards from Pesticide Use, with Special Reference to West Africa and South-East Asia. IUCN. Gland. Switzerland.
- BARHOOM, S. S., A. M. KHALAF and F.S. KADHIM. 1998. Aetiological and clinical findings of cutaneous myiasis in domestic animals in Iraq. *Iraq J. Vet. Sci.* 11: 31-44.
- GUERRINI, V. H. 1988. Ammonia toxicity and alkalosis in sheep infested by *Lucilia cuprina* larvae. *Int. J. Parasitol.* 18: 79-81.
- HEYNE, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Cetakan I. Yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta.
- HUMPHREY, J. D., J. P. SPRADBERY and R.S. TOZER. 1980. *Chrysomya bezziana*: pathology of old world screw-worm fly infestations in cattle. *Exp. Parasitol.* 49: 381-397.
- JOE LK, T.K. POO and E. WANNEE. 1957. Myiasis di Sumatera Selatan. *Maj. Kedokt. Indo.* 79: 278-280.
- KARDINAN, A. 2000. Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasi. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- LAETAMIA, J. A. and M. B. ISMAN. 2001. Crude seed extract of *Annona squamosa* (Annonaceae) as a potential botanical insecticide. Faculty of Agricultural Sciences. Main Mall. University of British Columbia. Vancouver. BC. Canada. *Plant Sci.* pp. 248-2357.
- LAETAMIA, J. A. and M. B. ISMAN. 2004. Efficacy of crude seed extracts of *Annona squamosa* against diamond back moth, *Plutella xylostella* L. in the greenhouse. *Inter. J. Pest. Manag.* 50: 129-133.
- LI. X. H., Y. H. HUI, J. K. RUPPRECHT, Y. M. LIU, K. V. WOOD, D. L. SMITH, C. J. CHANG and J. L. MC. LAUGHLIN. 1990. Bullatacin, bullatacinone, squamone, a new bioactive acetogenin, from the bark of *Annona squamosa*. *J. Natur. Prod.* 53(1): 81-86.
- LONDRSHAUSEN M, W. LEICHT, F. LIEB, H. MOESCHLER and H. WEISS. 1991a. Molecular mode of action of Annonins. *Pest. Sci.* 33(4): 427-438.
- LONDRSHAUSEN, M., W. LEICHT, F. LIEB, H. MOESCHLER and H. WEISS. 1991b. Annonins mode of action of acetogenins isolated from *Annona squamosa*. *Pest. Sci.* 33(4): 443-445.
- MANURUNG, J. dan BERIAJAYA. 2002. Efikasi ekstrak tanaman tembakau, srikaya dan mimba terhadap caplak *Boophilus microplus* secara *in vitro*. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Ciawi-Bogor, 30 September-1 Oktober 2002. Puslitbang Peternakan. hlm. 346-350.
- MANGUNKUSUMO, E. dan R. UTAMA. 1999. Myiasis Hidung. *Maj. Kedokt. Ind.* 49(2): 76-80.
- METCALF, R. L. 1986. The ecology of insecticides and the chemical control of insects *In: Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice.* Wiley. New York. pp. 251-297.
- MITSUI, T., S. ATSUSAWA, K. OHSAWA, I. YAMAMOTO, T. MIYAKE and T. UMEHARA. 1991. Search for insect growth regulators. *In: Pesticides and The Future: Toxicological Studies of Risks and Benefits. Rev. Pestic. Toxicol. I.* North Carolina State University. Raleigh. North Carolina. pp. 239-247.
- MORTON, J. 1987. Sugar Apple in Fruits of Warm Climates. Julia F. Morton, Miami, FL. pp. 69-72.
- PRIJONO. D. 1994. Teknik Pemanfaatan Insektisida Botanis. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- PRIJONO, D. dan H. TRIWIDODO. 1994. Pemanfaatan insektisida botani di tingkat petani. Pros. Seminar Pemanfaatan Pestisida Nabati. Bogor, 1-2 Desember 1993. hlm. 76-85.
- PRIJONO. D. 1988. Pengujian Insektisida. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- SANTOSO, R. D., HASANUDDIN dan A. JAMARO. 1991. Program STAT Versi 2.6. Program Pasca Sarjana. Universitas Padjajaran. Bandung.
- SOSROMARSONO, S. 1990. Peranan sumber hayati dalam pengelolaan serangga dan tungau hama. Seminar

- Pengelolaan Serangga Hama dan Tungau dengan Sumber Hayati. Bandung.
- SPRADBERY, J. P., R. S. TOZER and A. A. POND. 1983. The efficacy of some acaricides against Screwworm Fly larvae. *Aus. Vet. J.* 60: 57-58.
- SPRADBERY, J. P. 1991. A Manual for the Diagnosis of Screwworm Fly. CSIRO Division of Entomology. Canberra. Australia.
- SUNARYA, M.I.G.M. 1998. Penyakit *Myiasis* di Propinsi NTB. Sistem Informasi Kesehatan Hewan Nasional Bantuan EIVSP Pemerintah Australia. Dinas Peternakan Propinsi Daerah Tingkat I NTB. Mataram.
- SUKARSIH, R. S. TOZER and M. R. KNOX. 1989. Collection and case incidence of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana*, in three localities in Indonesia. *Penyakit Hewan* 21(38): 114-117.
- SUKARSIH, S. PARTOUTOMO, R. TOZER, E. SATRIA, G. WIJFFELS and G. RIDDING. 2000. Establishment and maintenance of a colony of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana* at Balitvet in Bogor, West Java, Indonesia. *JITV* 5: 144-149.
- SUTHERST, R. W., J. P. SPRADBERY and G. F. MAYWALD. 1989. The potential geographical distribution of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana*. *Med. Vet. Entomol.* 3: 273-280.
- TJOKRONEGORO, R.K. 1987. Penelusuran Senyawa Kandungan Tumbuhan Insektisida Indonesia. Bioaktif Terhadap Serangga. Universitas Padjajaran. Bandung.
- WARDHANA, A. H., S. MUHARSINI dan SUHARDONO. 2003a. Koleksi dan kejadian myiasis yang disebabkan oleh old world screwworm, *Chrysomya bezziana* di daerah endemis di Indonesia. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 29-30 September 2003. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 230-234.
- WARDHANA, A. H., S. MUHARSINI dan SUHARDONO. 2003b. Studi biologi *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae) dalam kondisi laboratorium. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 29-30 September 2003. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 235-239.