

## Efektifitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Pelarut Air, Metanol dan Heksan terhadap Mortalitas Larva Caplak *Boophilus microplus* secara *In Vitro*

APRIL H. WARDHANA, AMIR HUSEIN dan J. MANURUNG

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 23 Maret 2005)

### ABSTRACT

WARDHANA, A.H., AMIR HUSEIN and J. MANURUNG. 2005. The effectivity of *Annona squamosa* L seeds extracted by diverse organic solvents: water, methanol and hexane against mortality of tick larvae, *Boophilus microplus in vitro*. *JITV* 10(2): 134-142.

*Boophilus microplus* is the most important pest in livestock industries. The use of synthetic chemical acaricides is the main method of tick control, however, chemical acaricides are expensive, and they are harmful to environment and cause strain resistance. The aim of study was to investigate the affectivity of *Annona squamosa* L seeds extracted by diverse organic solvents such as water, methanol and hexane against mortality of *Boophilus microplus* larvae *in vitro*. Five hundred and fifty larvae were used in this study and divided into three groups e.g. water (3, 4 and 5% concentration), methanol and hexane extract groups (0.25, 0.50, and 0.75% concentration). Coumaphos (0.50%) was used as a positive control. The larvae were dipped into extract solution for 10 seconds and dried using filter paper. Their mortality was observed from one to five hours. The mortality data were transformed to Abbot formula and analyzed using probit analysis with 95% significant level. This study showed that the active compound of *Annona squamosa* L seeds had effectively contact toxic property for *B. microplus* larvae at 5, 0.50, and 0.75% for water, methanol and hexane extractions, respectively. The lethal concentrations of methanol extract (LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub>, and LC<sub>95</sub>) were lower than hexane extract e.g. 0.32, 0.86, and 1.13%, respectively and for hexane extract were 0.35, 1.11, and 1.54%, respectively at fifth hour. The lethal times of methanol extract on 0.50% concentration were shorter than hexane extract e.g. 3.12 hours (LT<sub>50</sub>), 5.86 hours (LT<sub>90</sub>), and 7.00 hours (LT<sub>95</sub>) and for hexane extract on 0.75% concentration were 3.26 hours (LT<sub>50</sub>), 6.21 hours (LT<sub>90</sub>), and 7.45 hours (LT<sub>95</sub>). Water extract of 5% concentration was effective for traditional farmer in rural area due to easy and cheap method. The lethal concentrations of water extract on fifth hour were 2.02% (LC<sub>50</sub>), 4.00% (LC<sub>90</sub>), and 4.85% (LC<sub>95</sub>) and the lethal time on 5% concentration were 2.54 hours (LT<sub>50</sub>), 4.13 hours (LT<sub>90</sub>), and 4.75 hours (LT<sub>95</sub>).

**Key Words:** *Annona squamosa*, *Boophilus microplus*, Water Extract, Methanol, Hexane

WARDHANA, A.H., AMIR HUSEIN dan J. MANURUNG. 2005. Efektifitas ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) dengan pelarut air, metanol dan heksan terhadap mortalitas larva caplak *Boophilus microplus* secara *in vitro*. *JITV* 10(2): 134-142.

Caplak *Boophilus microplus* adalah salah satu ectoparasit penting yang menyerang ternak. Metode pengendalian menggunakan akarisida sintetik memerlukan biaya yang mahal dan berdampak pencemaran lingkungan serta timbulnya ras hama resisten. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas ekstrak daging biji srikaya dengan berbagai pelarut (air, metanol dan heksan) terhadap larva *B. microplus* secara *in vitro*. Sebanyak 550 larva digunakan pada penelitian ini dan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok ekstrak air (konsentrasi 3, 4 dan 5%), metanol dan heksan (konsentrasi 0,25; 0,50 dan 0,75%). Coumaphos 0,50% digunakan sebagai kontrol positif. Larva dicelupkan ke dalam larutan uji selama 10 detik, kemudian ditiriskan dan setelah kering dipindahkan ke dalam pot obat. Mortalitas larva diamati setiap jam selama lima jam. Data mortalitas ditabulasikan ke dalam rumus Abbot dan dianalisis probit dengan selang kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif daging biji srikaya (annonain dan skuamosin) bersifat racun kontak yang efektif terhadap larva *B. microplus* pada konsentrasi 5% (ekstrak air); 0,50% (ekstrak metanol), dan 0,75% (ekstrak heksan). Ekstrak metanol mempunyai nilai LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub>, dan LC<sub>95</sub> yang lebih rendah daripada ekstrak heksan, yaitu berturut-turut 0,32; 0,86; dan 1,13% sedangkan pada ekstrak heksan menjadi 0,35; 1,11; dan 1,54% dalam waktu lima jam. Daya bunuh ekstrak metanol lebih cepat dan efektif pada konsentrasi 0,50%, yaitu 3,12 jam (LT<sub>50</sub>); 5,86 jam (LT<sub>90</sub>); dan 7,00 jam (LT<sub>95</sub>) dibandingkan dengan ekstrak heksan pada konsentrasi 0,75%, yaitu 3,26 jam (LT<sub>50</sub>); 6,21 jam (LT<sub>90</sub>); dan 7,45 jam (LT<sub>95</sub>). Ekstrak air pada konsentrasi 5% efektif untuk diaplikasikan oleh peternak tradisional di pedesaan karena metodenya mudah dan murah. Nilai konsentrasi letalnya pada jam ke lima adalah 2,02% (LC<sub>50</sub>); 4,00% (LC<sub>90</sub>); dan 4,85% (LC<sub>95</sub>) sedangkan nilai waktu letalnya pada konsentrasi 5% adalah 2,54 jam (LT<sub>50</sub>); 4,13 jam (LT<sub>90</sub>); dan 4,75 jam (LT<sub>95</sub>).

**Kata Kunci:** *Annona squamosa*, *Boophilus microplus*, Ekstrak Air, Metanol, Heksan

## PENDAHULUAN

Caplak *Boophilus microplus* adalah ektoparasit dari famili *Ixodidae* yang masih menjadi permasalahan bagi para peternak. Parasit ini dapat menyerang semua jenis ternak dan mempunyai daerah penyebaran yang luas terutama di negara-negara subtropis dan tropis termasuk Indonesia. Beberapa data menyebutkan bahwa sapi-sapi di daerah Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Aceh, Sumatera, Lampung, Sumba, Timor, Jawa Tengah dan Jawa Timur terinfeksi oleh caplak *B. microplus* (SIGIT *et al.*, 1983). MANURUNG (2000) melaporkan prevalensi caplak ini di Kecamatan Ciracap dan Surade (Jawa Barat) masing-masing mencapai 44 dan 30%.

Selain menyebabkan anemia pada ternak, caplak *B. microplus* mampu mentransmisikan beberapa penyakit yang digolongkan sebagai “tick fever”, yaitu babesiosis (*Babesia bovis* dan *B. bigemina*) dan anaplasmosis (*Anaplasma marginale*). Anggota genus ini juga dilaporkan sebagai vektor beberapa penyakit *viral haemorrhagic fever* seperti *Crimaen Congo haemorrhagic fever* (MOSQUEDA *et al.*, 2004; SHIMADA *et al.*, 2004).

Siklus hidup caplak *B. microplus* terdiri dari telur, larva, nimfa dan dewasa. Perkembangan larva sampai dengan dewasa terjadi pada satu individu induk semang yang disebut sebagai stadium parasitik sedangkan ketika caplak betina yang jenuh dengan darah (*engorged*) jatuh ke tanah dan bertelur disebut sebagai stadium non parasitik. Larva yang menetas akan merayap ke ujung-ujung rumput dan menempel pada hewan yang melewatinya. Larva dapat hidup di luar induk semang sampai 20 minggu (SOULSBY, 1982).

Penggunaan akarisida sintetik masih menjadi andalan bagi peternak untuk mengatasi caplak *B. microplus* selama ini. Namun harga akarisida sintetik saat ini semakin mahal dan langka di pasar. Disisi lain, penelitian membuktikan bahwa penggunaan akarisida sintetik dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, keracunan pada ternak, meninggalkan residu pada produk asal hewan dan memicu berkembangnya ras hama yang resisten (METCALF, 1986; KUNZ DAN KEMP, 1994; KARDINAN, 2000). Kondisi ini melahirkan pemikiran untuk mengembangkan metode pemberantasan caplak *B. microplus* menggunakan bahan-bahan non sintetik seperti agen biologi atau pemanfaatan tanaman yang bersifat akarisida (anti caplak) (KAAYA, 2000; CASTREJON *et al.*, 2003).

Di Indonesia dan negara berkembang lainnya, bahan insektisida asal tanaman telah sering digunakan dalam pengendalian hama secara tradisional. Bahan insektisida ini dapat digunakan secara langsung setelah melalui pengolahan tertentu. Untuk skala penggunaan yang cukup besar dan pada keadaan pasokan bahan baku yang melimpah, bahan aktif insektisida dari bagian tanaman dapat diekstrak dengan pelarut organik yang

sesuai. Setelah proses ekstraksi, hasil ekstrak seringkali diproses lebih lanjut untuk meningkatkan kadar bahan aktifnya, kemudian diolah dalam bentuk formulasi yang sesuai. Cara ekstraksi dengan pelarut organik dapat mengatasi kendala ketersediaan musiman dari bahan baku insektisida botanis dan ekstrak yang diperoleh lebih mudah disimpan daripada bahan mentahnya (KARDINAN, 2000).

Biji srikaya adalah salah satu bagian tanaman srikaya (*Annona squamosa* L) yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi insektisida botanis. Tanaman ini mudah didapat dan banyak ditanam di kebun-kebun di Indonesia. Biji srikaya mengandung 42-45% lemak, annonain dan skuamosin (golongan asetogenin) serta bersifat racun kontak dan perut terhadap serangga (LONERSHAUSEN *et al.*, 1991a; KARDINAN, 2000; LEATEMIA dan ISMAN, 2004). Pemberian ekstrak heksan biji srikaya dengan konsentrasi 0,50% pada media pertumbuhan larva *Chrysomya bezziana* dilaporkan menyebabkan kematian dan kegagalan menjadi imago hingga 100% (WARDHANA *et al.*, 2004).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji srikaya (*A. squamosa* L) dengan pelarut air, metanol dan heksan terhadap larva *B. microplus* secara *in vitro*. Larva ini menjadi penting untuk diteliti karena berdasarkan siklus hidupnya menempati dua stadium, yaitu parasitik (di dalam induk semang) dan non parasitik (di rumput).

## MATERI DAN METODE

### Persiapan larva *B. microplus*

*Boophilus microplus* betina dewasa yang jenuh dengan darah (*engorged*) dikoleksi dari sapi PO milik peternak tradisional, di Surade, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Caplak-caplak tersebut dieramkan ke dalam pot obat berdiameter 4,8 cm dengan tinggi 5,5 cm, selanjutnya diinkubasi ke dalam stoples berdiameter 18 cm dengan tinggi 24 cm. Untuk menjaga kelembaban ruangan pada proses pengeraman maka di bagian bawah pot obat diisi dengan air sehingga diperoleh kelembaban 80-90% pada suhu kamar (TONGCHOTE, 1978). Perkembangan *B. microplus* diamati setiap hari sampai bertelur dan menetas menjadi larva. Sampel larva yang digunakan dalam penelitian ini berumur 7-10 hari.

### Biji srikaya (*A. squamosa* L)

Biji srikaya (*A. squamosa* L) diperoleh dari Solo, Jawa Tengah. Biji yang sudah tua (berwarna hitam) dikoleksi dari buah srikaya yang sudah masak kemudian diangin-anginkan sampai kering selama tujuh hari. Biji-biji tersebut dibuka kulitnya dan isinya dikoleksi, selanjutnya dihaluskan menggunakan *blender*

hingga menjadi serbuk. Serbuk biji srikaya (tanpa kulit) disimpan pada suhu 4°C sampai proses ekstraksi dengan pelarut air, metanol dan heksan dilakukan.

#### Pembuatan ekstrak air

Sebanyak 5 g serbuk biji srikaya (tanpa kulit) direndam dengan 100 ml air suling yang mengandung 0,2% Triton selama 24 jam pada suhu kamar. Hasil rendaman disaring menggunakan kain kasa halus dan ditampung dalam labu Erlenmeyer. Larutan hasil penyaringan ini yang akan digunakan dalam uji *in vitro*.

#### Pembuatan ekstrak metanol

Sebanyak 25 g serbuk biji srikaya (tanpa kulit) dan 250 ml metanol dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berukuran 500 ml kemudian dikocok menggunakan *orbital shaker* SS70 selama 24 jam dengan kecepatan 250 rpm. Supernatan dipisahkan dengan cara disaring dan ditampung dalam labu Erlenmeyer sedangkan filtratnya diaduk lagi dengan 250 ml metanol selama satu jam. Hasil saringan pertama dan ke dua dicampur menjadi satu lalu dipindahkan ke dalam labu *evaporator*. Pelarut metanol yang mengandung senyawa bioaktif diuapkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan rendah ( $\pm 15$  mm Hg). Proses ekstraksi dihentikan setelah semua metanol menguap dan diperoleh hasil ekstrak berwarna coklat kekuningan (PRIJONO, 1994).

#### Pembuatan ekstrak heksan

Prinsip metode ekstraksi dengan pelarut heksan hampir sama dengan pelarut metanol, namun pada pelarut heksan diperlukan suhu penguapan yang lebih rendah, yaitu 40°C. Hasil ekstraksi dengan pelarut heksan berwujud cairan kental berwarna kuning transparan dan berbentuk minyak (PRIJONO, 1994).

#### Penentuan konsentrasi

Menurut PRIJONO (1994) bahwa pengujian awal ekstrak dari bahan tumbuhan dengan pelarut organik dilakukan pada konsentrasi 0,5% dan untuk ekstrak air dilakukan pada konsentrasi 2,5–5%. Konsentrasi ekstrak metanol/heksan yang diuji pada penelitian ini adalah 0,25; 0,50 dan 0,75%. Penentuan konsentrasi tersebut berdasarkan pada volume air suling yang digunakan untuk membuat larutan pencelupan (b/v). Sebanyak 0,25; 0,50 dan 0,75 g ekstrak metanol/heksan dilarutkan dalam 100 ml air suling dengan menambahkan pengemulsi 0,20% Triton sampai homogen. Konsentrasi ekstrak air diperoleh dengan cara mengencerkan ekstrak stok dengan air suling menjadi 3, 4 dan 5%.

#### Perlakuan

Uji *in vitro* dilakukan berdasarkan metode BAGHERWAL (1999). Larva diletakkan di bagian tengah kain halus (diameter 10 cm) menggunakan kuas. Larva yang berada di dalam kain dikurung dengan cara melipat kain tersebut, selanjutnya dicelupkan ke dalam larutan uji selama 10 detik. Setelah ditiriskan di bawah kertas saring maka larva dipindahkan ke dalam pot obat dan diamati mortalitasnya setiap jam.

#### Parameter pengamatan

Parameter yang diamati adalah mortalitas larva pasca pencelupan di dalam larutan uji setiap jam selama lima jam. Larva dinyatakan mati apabila tidak bergerak ketika disentuh dengan jarum tumpul pada pengamatan di bawah mikroskop. Umumnya kaki larva yang mati akan menggulung.

#### Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap pola faktorial, yaitu jenis perlakuan sebagai variabel terikat dan jam pengamatan sebagai variabel bebas. Sebanyak 450 ekor larva *B. microplus* dibagi menjadi tiga kelompok (masing-masing 150 ekor), yaitu kelompok ekstrak air, metanol dan heksan. Setiap kelompok dibagi menjadi tiga perlakuan (50 ekor larva) dan masing-masing perlakuan terdiri dari lima ulangan (10 ekor larva). Disamping itu, sebanyak 100 ekor larva dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (air suling + 0,2% Triton) dan kontrol positif (Caumaphos + 0,2% Triton), masing-masing 50 ekor (Tabel 1).

Data mortalitas larva *B. microplus* per jam di transformasikan ke dalam rumus Abbot (rumus persentase mortalitas terkoreksi):

$$Pt = \frac{Po - Pc}{100 - Pc} \times 100\%$$

keterangan:

- Pt : Persentase mortalitas terkoreksi
- Po : Persentase mortalitas teramati
- Pc : Persentase mortalitas kontrol

Hubungan regresi antara konsentrasi ekstrak dan tingkat mortalitas larva dianalisis menggunakan analisis probit dengan program *POLO-PC Software*, sehingga diperoleh konsentrasi letal (LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub>) dan waktu letal (LT<sub>50</sub>, LT<sub>90</sub> dan LT<sub>95</sub>) dengan selang kepercayaan 95% (PRIJONO, 1988).

**Tabel 1.** Perlakuan pada uji *in vitro* terhadap larva *B. microplus* dengan konsentrasi yang berbeda-beda

Perlakuan	Konsentrasi (%)
Air suling + 0,2% Triton (kontrol negatif)	-
Ekstrak air biji srikaya (tanpa kulit) + 0,2% Triton	3
	4
	5
Ekstrak metanol biji srikaya (tanpa kulit) + 0,2% Triton	0,25
	0,50
	0,75
Ekstrak heksan biji srikaya (tanpa kulit) + 0,2% Triton	0,25
	0,50
	0,75
Coumaphos + 0,2% Triton (kontrol negatif)	0,50

## HASIL DAN PEMBAHASAN

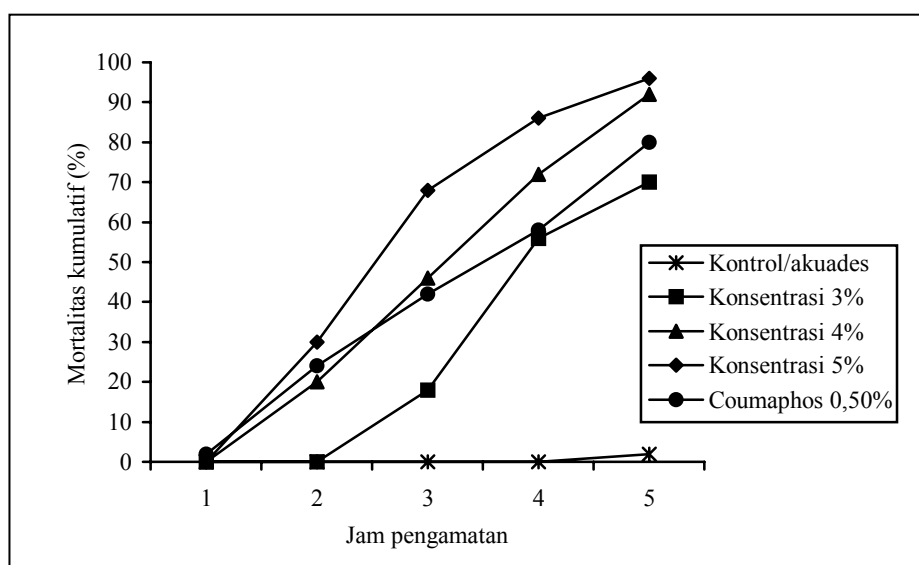
### Pengaruh ekstrak air

Ekstrak air merupakan metode ekstrak yang paling sederhana dan diharapkan dapat dilakukan oleh peternak di pedesaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata terhadap mortalitas larva *B. microplus* pasca pencelupan dalam ekstrak air dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Pencelupan pada konsentrasi 3% belum mampu

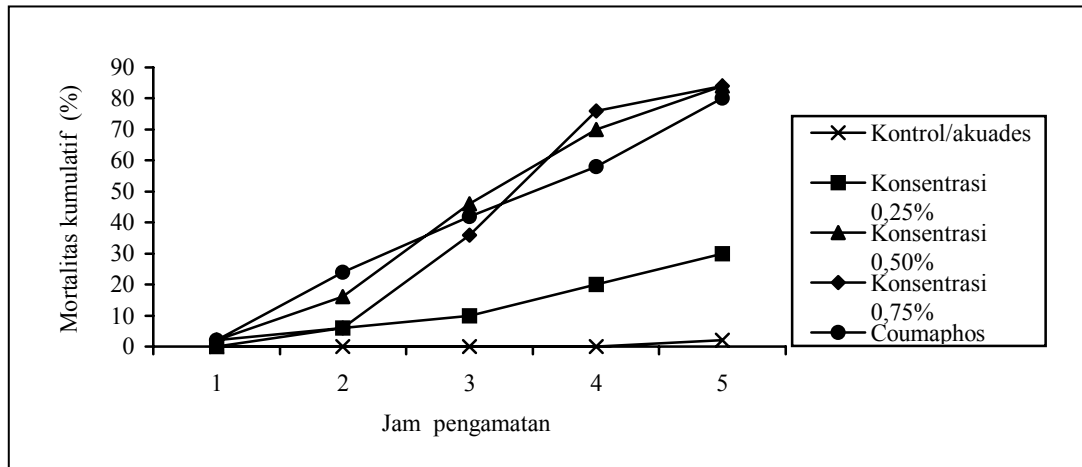
mematikan larva *B. microplus* sampai jam ke dua. Mortalitas terjadi pada jam ke tiga dan terus meningkat hingga jam ke lima. Pencelupan pada konsentrasi 4% berbeda nyata dengan 5% mulai dari jam ke dua hingga ke empat ( $P < 0,05$ ), namun pada jam ke lima menunjukkan respon yang sama ( $P > 0,05$ ) (Gambar 1). Pencelupan ekstrak air dengan konsentrasi 4 dan 5% menunjukkan tingkat mortalitas larva yang lebih tinggi dibandingkan dengan coumaphos 0,50%, yaitu masing-masing 15 dan 20% pada jam ke lima. Umumnya larva menjadi cepat lemas pasca pencelupan dalam coumaphos 0,5% tetapi tidak mati (bersifat *knock down*). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak air daging biji srikaya pada konsentrasi 5% telah mampu menyebabkan mortalitas larva sebesar 96% dalam waktu lima jam.

### Pengaruh ekstrak metanol

Metanol adalah pelarut yang bersifat polar dan sering digunakan untuk proses ekstraksi suatu simplisia. Senyawa bioaktif daging biji srikaya yang bersifat polar akan larut dalam pelarut ini. Hasil pencelupan larva *B. microplus* dalam ekstrak metanol menunjukkan mortalitas yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Sampai jam ke tiga, mortalitas pada pencelupan dengan konsentrasi 0,25 dan 0,75% masih di bawah coumaphos 0,50%, sedangkan ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,50% memberikan respon yang sama ( $P > 0,05$ ). Peningkatan mortalitas terjadi pada jam ke empat, yaitu masing-masing 20,70% (konsentrasi 0,50%) dan 31,03% (konsentrasi 0,75%) dibandingkan dengan coumaphos 0,50% (Gambar 2).



**Gambar 1.** Persentase rata-rata mortalitas larva *B. microplus* pasca pemberian ekstrak air biji srikaya (*Annona squamosa* L)



Gambar 2. Persentase rata-rata mortalitas larva *B. microplus* pasca pemberian ekstrak metanol biji srikaya (*Annona squamosa L*)

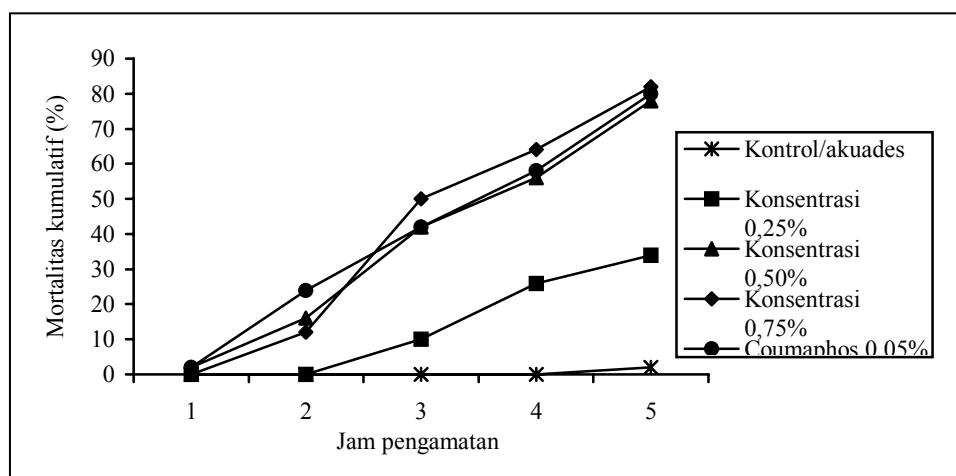
Mortalitas larva pada jam ke lima tidak berbeda nyata antara konsentrasi 0,50 dan 0,75% dengan coumaphos 0,50% ( $P>0,05$ ). Pencelupan larva pada konsentrasi 0,25% hanya menyebabkan mortalitas sebesar 30% sampai jam ke lima. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak metanol daging biji srikaya dengan konsentrasi 0,50% telah mampu menyebabkan mortalitas larva yang sama dengan coumaphos 0,50%, yaitu sebesar 80–84% pada jam ke lima.

### Pengaruh ekstrak heksan

Heksan adalah pelarut yang bersifat non polar dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang banyak mengandung lemak/minyak. Mortalitas larva *B. microplus* yang direndam di dalam larutan ekstrak heksan menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan kontrol ( $P<0,05$ ). Sama halnya dengan ekstrak metanol, pencelupan di dalam ekstrak

heksan pada konsentrasi 0,25% hanya mampu mematikan larva *B. microplus* sebesar 34% sampai jam ke lima. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak heksan dan metanol pada konsentrasi 0,25% kurang efektif dalam membunuh larva *B. microplus*.

Pencelupan di dalam ekstrak heksan pada konsentrasi 0,50% cenderung mempunyai respon yang sama dengan coumaphos 0,50% (Gambar 3). Peningkatan mortalitas terjadi pada konsentrasi 0,75; mulai jam ke tiga dan ke empat, yaitu masing-masing 19,04 dan 10,34%. Peningkatan tersebut tidak begitu tajam sehingga tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap mortalitas larva *B. microplus* pada jam ke lima antara konsentrasi 0,50 dan 0,75% dengan coumaphos 0,5% ( $P>0,05$ ). Hasil ini membuktikan bahwa pencelupan di dalam ekstrak heksan pada konsentrasi 0,50% telah mampu menyebabkan mortalitas larva yang sama dengan coumaphos 0,50%, yaitu sebesar 78–80% pada jam ke lima.



Gambar 3. Persentase rata-rata mortalitas larva *B. microplus* pasca pemberian ekstrak heksan biji srikaya (*Annona squamosa L*)

**Efektifitas ekstrak daging biji srikaya**

Efektifitas ekstrak air, metanol dan heksan dari biji srikaya ditentukan berdasarkan konsentrasi letal dan waktu letal pasca perlakuan. Analisis konsentrasi letal dimulai pada jam ke tiga karena mortalitas pada jam pertama hingga ke dua kurang dari 25%. Nilai konsentrasi letal (LC) pada ekstrak air, metanol dan heksan berbeda-beda, tergantung pada jam pengamatan dan tingkat mortalitas larva *B. microplus* yang diharapkan.

Pencelupan di dalam ekstrak air mampu mematikan 50% populasi larva *B. microplus* (LC<sub>50</sub>) pada konsentrasi 4,32% untuk jam ke tiga; 2,76% untuk jam ke empat dan 2,02% untuk jam ke lima. PRIJONO (1994) menyebutkan bahwa suatu ekstrak dikatakan efektif jika perlakuan dengan ekstrak tersebut dapat mengakibatkan tingkat kematian ≥ 90%. Oleh karena itu, dilakukan juga analisis LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub> sehingga dapat menaksir konsentrasi ekstrak yang dapat mematikan larva sebesar 90 dan 95% dari populasi yang diuji.

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak air mempunyai nilai LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub> masing-masing 4 dan 4,85% pada jam ke lima. Nilai LC tersebut masuk dalam kategori batas kelayakan untuk penggunaan ekstrak air di lapang, yaitu 2,5–5% (PRIJONO, 1994). Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak air daging biji srikaya efektif untuk mematikan larva hingga 95% pada konsentrasi kurang dari 5% dalam waktu lima jam. Kematian larva *B. microplus* pada perlakuan ini diduga karena efek racun kontak dari senyawa bioaktif yang larut pada air.

Nilai LC<sub>50</sub> pada ekstrak metanol dan heksan cenderung tidak berbeda, yaitu antara 0,32–0,72% pada jam ke tiga sampai ke lima (Tabel 2). Umumnya nilai LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub> pada ekstrak metanol lebih rendah

dibandingkan dengan ekstrak heksan. Pencelupan ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,86% (LC<sub>90</sub>) diduga mampu mematikan 90% populasi larva yang diuji. Konsentrasi ini masuk dalam kategori penggunaan ekstrak dengan pelarut organik di lapang, yaitu 0,50% untuk diaplikasikan ke tanaman dan 1% untuk diaplikasikan ke ternak (PRIJONO, 1994). Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif yang larut dalam metanol lebih toksik terhadap larva *B. microplus* dibandingkan dengan pelarut heksan. Untuk mematikan populasi larva *B. microplus* dalam jumlah yang sama memerlukan konsentrasi ekstrak heksan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol.

Ditinjau dari waktu letalnya, pencelupan ekstrak air dengan konsentrasi 3, 4 dan 5% mampu mematikan 50% populasi larva *B. microplus* (LT<sub>50</sub>) masing-masing dalam waktu 4,08; 3,02 dan 2,54 jam. Nilai LT<sub>90</sub> dan LT<sub>95</sub> pada konsentrasi 5% dicapai dalam waktu kurang dari lima jam, yaitu 4,13 dan 4,75 jam (Tabel 3). Senyawa bioaktif daging biji srikaya yang larut dalam air (5%) terbukti efektif untuk mematikan 95% dari populasi larva *B. microplus* dalam waktu kurang dari lima jam (4,75 jam).

Waktu letal median (LT<sub>50</sub>) pada ekstrak metanol dan heksan dengan konsentrasi 0,50 dan 0,75% terjadi sekitar 3,12–3,59 jam sedangkan pada konsentrasi 0,25% terjadi di atas lima jam, yaitu sekitar 5,87–5,90 jam. Ekstrak heksan pada konsentrasi 0,50% membutuhkan waktu 0,97 dan 1,20 jam lebih lama untuk mencapai LT<sub>90</sub> dan LT<sub>95</sub> dibandingkan dengan ekstrak metanol. Efek yang hampir sama antara ekstrak heksan dan metanol terjadi pada konsentrasi 0,75%. Nilai LT<sub>50</sub>, LT<sub>90</sub> dan LT<sub>95</sub> pada konsentrasi tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang mencolok, yaitu berbeda 0,02–0,05 jam (Tabel 2).

**Tabel 2.** Konsentrasi letal ekstrak daging biji srikaya pada masing-masing perlakuan berdasarkan pengamatan pada jam yang berbeda

Perlakuan	Jumlah larva	Jam pengamatan	Konsentrasi letal (%)		
			LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>	LC <sub>95</sub>
Ekstrak air	50	3	4,32	8,55	10,38
	50	4	2,76	5,47	6,64
	50	5	2,02	4,00	4,85
Ekstrak metanol	50	3	0,72	1,92	2,54
	50	4	0,41	1,09	1,43
	50	5	0,32	0,86	1,13
Ekstrak heksan	50	3	0,70	2,23	3,09
	50	4	0,47	1,51	2,10
	50	5	0,35	1,10	1,54

**Tabel 3.** Waktu letal ekstrak daging biji srikaya pada masing-masing perlakuan berdasarkan konsentrasi yang berbeda-beda

Perlakuan	Jumlah larva	Konsentrasi (%)	Waktu letal (jam)		
			LT <sub>50</sub>	LT <sub>90</sub>	LT <sub>95</sub>
Ekstrak air	50	3	4,08	6,66	7,64
	50	4	3,02	4,93	5,66
	50	5	2,54	4,13	4,75
Ekstrak metanol	50	0,25	5,87	11,02	13,18
	50	0,50	3,12	5,86	7,00
	50	0,75	3,30	6,19	7,40
Ekstrak heksan	50	0,25	5,90	11,23	13,43
	50	0,50	3,59	6,83	8,20
	50	0,75	3,26	6,21	7,45

Hasil yang cukup menarik terjadi pada ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,75% yang membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan konsentrasi 0,50% dalam mencapai nilai LT<sub>50</sub>, LT<sub>90</sub> dan LT<sub>95</sub>. Mortalitas larva relatif lebih rendah dibandingkan pada konsentrasi 0,50% dan coumaphos 0,50% sejak jam pertama hingga ke tiga (Gambar 2). Peningkatan mortalitas sampai dua kali lipat lebih (dari jam ke tiga) terjadi pada jam ke empat. Kondisi ini juga terlihat pada ekstrak heksan, yaitu konsentrasi 0,75% menyebabkan kematian larva *B. microplus* yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan 0,50% sampai jam ke dua, tetapi mengalami peningkatan empat kali lipat pada jam ke tiga. Faktor yang diduga berpengaruh adalah adanya keragaman toleransi antara individu dalam suatu populasi terhadap konsentrasi suatu insektisida (PRIJONO, 1988).

Mortalitas larva *B. microplus* pasca pencelupan diduga karena pengaruh senyawa bioaktif yang terdapat didalam ekstrak biji srikaya, yaitu annonain dan skuamosin yang termasuk dalam golongan asetogenin (*annonaceous acetogenins*) (LEATEMIA dan ISMAN, 2001). Senyawa tersebut telah banyak diteliti dan dilaporkan bersifat sebagai insektisida, akarisisida, antiparasit dan bakterisida (ALALI *et al.*, 1993; GUADANO *et al.*, 2000).

Efek racun kontak ekstrak biji srikaya terlihat dari gejala klinis yang timbul pada larva *B. microplus*, yaitu gerakannya menjadi lamban, tubuh mengkerut dan akhirnya mati. Larva tidak menunjukkan gejala kejang-kejang seperti yang terjadi pada racun syaraf. Gejala-gejala tersebut mengindikasikan bahwa larva kehabisan energi (ATP) dan keadaan ini sesuai dengan mekanisme kerja senyawa bioaktif ekstrak biji srikaya pada tingkat seluler (LONDERSHAUSEN *et al.*, 1991a).

Annonain dan skuamosin terbukti mampu menghambat transfer elektron pada situs I dengan cara menghalangi ikatan antara NADH dengan ubiquinon dalam rantai transfer elektron pada proses respirasi sel

yang mengakibatkan proses pembentukan energi metabolik terhambat (COLOMA *et al.*, 2002). Mekanisme tersebut dibuktikan pada sel hati sapi, yaitu terjadinya hambatan terhadap ikatan enzim NADH dengan sitokrom c-reduktase dan sitokrom kompleks sub unit I sehingga mengakibatkan pernafasan sel terhenti dan menyebabkan kematian (LONDERSHAUSEN *et al.*, 1991a; LONDERSHAUSEN *et al.*, 1991b). Pengaruh annonain dan skuamosin dalam menghambat rantai respirasi sel diketahui lebih toksik beberapa kali dibandingkan dengan rotenon atau piericidin (DEGLI ESPOTI *et al.*, 1994). Mekanisme ini didukung oleh laporan CHAVEZ *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa golongan asetogenin mampu menghambat sintesis ATP di dalam mitokondria.

Penyerapan insektisida racun kontak sebagian besar terjadi pada kutikula. Senyawa aktif akan berpenetrasi ke dalam tubuh serangga melalui bagian yang dilapisi oleh kutikula yang tipis, seperti selaput antar ruas, selaput persendian pada pangkal embelan dan kemoreseptor pada tarsus (PRIJONO, 1994). Annonain dan skuamosin diduga mampu berdifusi dari lapisan kutikula terluar melalui lapisan yang lebih dalam menuju hemolimfa, mengikuti aliran hemolimfa dan disebarkan ke seluruh bagian tubuh larva *B. microplus*.

Berdasarkan hasil-hasil di atas membuktikan bahwa ekstrak biji srikaya dengan pelarut air, metanol dan heksan mempunyai efek racun kontak terhadap larva *B. microplus* dan berpotensi untuk dikembangkan menjadi insektisida botanis yang ramah lingkungan. Hasil ini dapat digunakan sebagai rujukan untuk melakukan uji *in vivo* dengan cara menyemprot (*spraying*) ternak yang terinfestasi oleh caplak *B. microplus*. Penyemprotan ekstrak biji srikaya juga dapat dilakukan di padang penggembalaan dengan pertimbangan bahwa larva pada stadium non parasitik berada di rumput.

## KESIMPULAN

Biji srikaya bersifat efek racun kontak yang efektif terhadap larva *B. microplus* pada konsentrasi 5% (ekstrak air); 0,50% (ekstrak metanol) dan 0,75% (ekstrak heksan). Ekstrak metanol biji srikaya (tanpa kulit) mempunyai nilai konsentrasi letal lebih rendah dan waktu letal yang lebih pendek daripada ekstrak heksan. Perlu dilakukan uji *in vivo* ekstrak biji srikaya pada ternak yang terinfestasi oleh *B. microplus*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dana penelitian ini dibiayai oleh APBN 2002. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Dra. Sukarsih M.Sc yang telah menyediakan biji srikaya dan Ibu Drh. Indraningsih, MSc (Ketua Kelti Toksikologi) yang memberikan ijin pada saat proses ekstraksi. Terima kasih disampaikan juga kepada Andaka Widagda, Adi Wiratmana dan para peternak di daerah Surade, Jawa Barat atas kerjasamanya selama ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- ALALI, F.Q., X.X. LIU and J.L. MC. LAUGHLIN. 1999. Annonaceous acetogenins: Recent progress. *J. Nat. Prod.* 62: 504-540.
- BAGHERWAL, R.K. 1999. Acaricidal efficacy of AV/EPP/14 against *Hyalomma anatolicum in vitro* and on naturally infested cattle. *Indian. Vet. J.* 76: 196-198.
- CASTREJON, F.N., C.C. VASQUEZ, M.F. RUVALCABA, J.M. TORRES, J.S. CRUZ and M.R. PARRA. 2003. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants. *Parasitol. Latinoam* 58: 118-121.
- CHAVEZ, D., R. MATA, R.I. PRIETO and B.L. HENNSEN. 2001. Annonaceous acetogenins: Naturally occurring inhibitors of ATP synthesis and photosystem II in spinach chloroplast. *Physiol. Plant.* 111: 262.
- COLOMA, A. G., A. GUADANO, C. INES, R.M. DIAZ and D. CORTES. 2002. Selective action of acetogenin mitochondrial complex I inhibitor. *Z. Naturforsch.* 57c: 1028-1034.
- DEGLI ESPOTI, M., A. GHELLI, M. RATA, D. CORTES and E. ESTORNELL. 1994. Natural substances (acetogenins) from the family Annonaceae are powerful inhibitors of mitochondrial NADH dehydrogenase (complex I). *Biochem. J.* 301: 161-167.
- GUADANO, A., C. GUTIERREZ, E. DE LA PENA, D. CORTEZ and G.A. COLOMA. 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. *J. Nat. Prod.* 63: 773-776.
- KAAYA, G.P. 2000. The potential for anti-tick plants as component of an integrated tick control strategy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 916: 576-582.
- KARDINAN, A. 2000. Pesticida Nabati, Ramuan dan Aplikasi. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- KUNZ, S.E. and D.H. KEMP. 1994. Insecticides and acaricides: Resistance and environmental impact. *Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.* 13: 1249-1286.
- 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.* 248-2357.
- LAETAMIA, J.A. and M.B. ISMAN. 2004. Efficacy of crude seed extracts of *Annona squamosa* against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. in the greenhouse. *Inter. J. Pest. Manag.* 50: 129-33.
- LONDERSHAUSEN, M., W. LEICHT, F. LIEB, H. MOESCHLER and H. WEISS. 1991a. Molecular mode of action of Annonins. *Pest. Sci.* 33: 427-438.
- LONDERSHAUSEN, M., W. LEICHT, F. LIEB, H. MOESCHLER and H. WEISS. 1991b. Annonins-Mode of action of acetogenins isolated from *Annona squamosa*. *Pest. Sci.* 33: 443-445.
- MANURUNG, J. 2000. Studi prevalensi caplak pada sapi di Kecamatan Ciracap dan Kecamatan Surade Kabupaten Sukabumi Jawa Barat dan cara-cara peternak menanggulangnya. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Ciawi 30 September-1 Oktober 2002. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor. hlm. 351-356.
- 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.
- MOSQUEDA, J., J.A. RAMOS, A. FALCON, J.A. ALVAREZ, V. ARAGON and J.V. FIGUEROA. 2004. *Babesia bigemina*: Sporozoite isolation from *Boophilus microplus* nymphs and initial immunomolecular characterization. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1026: 222-231.
- PRIJONO. D. 1988. Pengujian Insektisida. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- PRIJONO. D. 1994. Teknik Pemanfaatan Insektisida Botanis. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- SHIMADA, M.K., M.H. YAMAMURA, P.M. KAWASAKI, K. TAMEKUNI, M. IGARASHI, A. VIDOTTO dan M.C. VIDOTTO. 2004. Detection of *Anaplasma marginale* DNA in larva of *Boophilus microplus* ticks by polymerase chain reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1026: 95-102.



- SIGIT, S.H., S. PARTOSOEDJONO dan M.S. AKIB. 1983. Laporan penelitian: Inventarisasi dan Pemetaan Parasit Indonesia Tahap Pertama. Ektoparasit. Proyek No.2/Penel. 84 T-IPB/1980-1981. Proyek Peningkatan dan Pengembangan Perguruan Tinggi IPB. Bogor.
- SOULSBY, E.J.L. 1982. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7<sup>th</sup> Ed. Bailliere Tindall. London. p. 462.
- TONGCHOTE, B. 1978. The Susceptibility of Cattle Tick (*Boophilus microplus*) Larvae to Organophosphate Pesticides. Seameo regional center for tropical biology. BIOTROP. Bogor.
- 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: 272-280.