



**TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) TERHADAP MORTALITAS
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Oleh :

**Dyah Prajnaparamita Dewi
NIM 100210103020**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**



**TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) TERHADAP MORTALITAS
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan studi Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi
dan mencapai Gelar Sarjana Pendidikan

Oleh :

Dyah Prajnaparamita Dewi
NIM 100210103020

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang, saya persembahkan skripsi ini dengan segala cinta dan kasih kepada:

1. Ibunda Sarpiah dan Ayahanda Didik Supriyadi yang selama ini telah senantiasa memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan pengorbanan baik moral maupun materi yang tidak akan dapat saya balas dengan apapun dan sampai kapanpun, serta segala didikan yang mampu menghantarkan diri ini menjadi sosok yang tangguh dalam menjalani hidup;
2. Bapak dan Ibu pengajar sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah memberikan bekal ilmu yang bermanfaat;
3. Almamater Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember yang saya banggakan.

MOTO

*Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan..
(terjemahan Q.S. Al-Insyiraah ayat 5-6)^{*)}*



^{*)} CV Diponegoro. 2007. *Al Hikmah: Al Quran dan Terjemahannya*. Bandung Diponegoro.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Dyah Prajnaparamita Dewi

NIM : 100210103020

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Toksistas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Juli 2014

Yang menyatakan,

Dyah Prajnaparamita Dewi

NIM 100210103020

SKRIPSI

**TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) TERHADAP MORTALITAS
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

Oleh

Dyah Prajnaparamita Dewi
NIM 100210103020

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Suratno, M.Si.

PERSETUJUAN

**TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) TERHADAP MORTALITAS
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh

Nama Mahasiswa : Dyah Prajnaparamita Dewi
NIM : 100210103020
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2010
Daerah Asal : Mojokerto
Tempat, Tanggal Lahir : Mojokerto, 23 Mei 1993

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes.
NIP. 19600309 198702 2 002

Prof. Dr. Suratno, M.Si.
NIP. 19670625 199203 1 003

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Toksistas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 24 September 2014

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes.
NIP 19600309 198702 2 002

Prof. Dr. Suratno, M.Si.
NIP 19670625 199203 1 003

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Jekti Prihatin, M.Si.
NIP 19651009 199103 2 001

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.
NIP 19571028 198503 1 001

Mengesahkan

Dekan FKIP Universitas Jember,

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.
NIP. 19540501 198303 1 005

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan studi pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada.

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Ibu Susi Setiawani, S.Si., M.Sc., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember sekaligus Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Jekti Prihatin, M.Si. selaku Dosen Penguji I yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam penulisan skripsi ini;
6. Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si. selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam penulisan skripsi ini;
7. Semua dosen FKIP Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;
8. Bapak Tamyis dan Mas Adi selaku teknisi laboratorium di Program Studi Pendidikan Biologi;

9. Bapak Kris Cahyo di *Tropical Disease Diagnostic Center*, Universitas Airlangga Surabaya yang telah bersedia membantu pemenuhan kebutuhan telur nyamuk *Aedes aegypti* L.;
10. Bapak Edi di UPT Balai Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Purwodadi yang telah bersedia membantu proses identifikasi tanaman alpukat;
11. Adikku Mc Gyver dan keluarga besarku di Mojokerto yang selalu memberi semangat, doa, dan dukungan baik moral maupun materi;
12. Kakanda Faisnur Iman (Fais Memukau) yang selalu ada untuk memberikan semangat, kasih sayang, dan menemani setiap langkah ini semenjak dua tahun yang lalu;
13. Teman-teman seperjuangan satu bimbingan skripsi Vita Gita Puspasari, Ika Ayu Ambarwati, dan Livara Indhika A. yang telah saling membantu dan memotivasi satu sama lain;
14. Temanku Kuswati Faisol yang telah membantu analisis;
15. Sahabat-sahabat di Surabaya Diah Ayu Ivonny, S.Si. dan Saiful Rizal yang telah membantu secara teknis maupun secara moral;
16. Teman-teman angkatan 2010 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan kenangan yang tak pernah terlupakan;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2014

Penulis

RINGKASAN

Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.; Dyah Prajnaparamita Dewi, 100210103020; 2014; 84 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan vektor utama penyebab penyakit DBD di Indonesia. Upaya penanggulangan DBD sangat bergantung pada program pengendalian vektor yang sampai saat ini masih dititikberatkan pada penggunaan insektisida kimia sintetis. Usaha untuk mengurangi dampak negatif dari insektisida sintetis sangat diperlukan, yaitu dengan mencari insektisida alternatif yang lebih efektif dan mempunyai dampak yang kecil terhadap lingkungan. Insektisida alternatif yang berpotensi adalah insektisida nabati. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai insektisida nabati adalah alpukat (*Persea americana* Mill.). Biji alpukat memiliki kandungan saponin yang tinggi. Aktivitas pestisidal dari saponin, salah satunya adalah menghambat enzim dalam saluran pencernaan sehingga menurunkan kemampuan dalam mencerna nutrisi tertentu. Ekstrak biji alpukat juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai larvasida terhadap *Aedes aegypti* L. dengan LC_{50} sebesar 16,7 mg/L. Penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan larvasidal ekstrak biji alpukat terhadap *Aedes aegypti* L. perlu dilakukan karena ekstrak biji alpukat memiliki kelemahan untuk dapat diaplikasikan secara langsung, sehingga perlu dilakukan pembuatan granula. Granula dapat disimpan dalam jangka waktu lama dan lebih tahan terhadap pengaruh udara. Penelitian mengenai toksisitas granula ekstrak biji alpukat terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang diaplikasikan seperti bubuk abate juga belum pernah dilakukan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efek toksik granula ekstrak biji alpukat terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dan menganalisis besarnya toksisitas (LC_{50}) dan LT_{50} granula ekstrak biji alpukat terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes*

aegypti L. dengan waktu dedah 24 jam. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi dan Laboratorium Biologi Farmasi, Universitas Jember. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap. Serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat yang digunakan adalah 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm dengan 3 kali replikasi. Larva *Aedes aegypti* L. yang digunakan sebanyak 480 ekor. Setiap perlakuan menggunakan 20 ekor larva dalam 100 ml larutan granula ekstrak biji alpukat. Pengambilan sampel penelitian dilakukan secara homogen dari larva *Aedes aegypti* L. akhir instar III sampai awal instar IV. Data yang diperoleh adalah data mortalitas larva *Aedes aegypti* L. pada 24 jam. Analisis data yang digunakan untuk menentukan LC_{50} dan LT_{50} selama waktu dedah 24 jam yaitu analisis probit dengan program komputer *Minitab 14*.

Biji alpukat dapat disebut sebagai insektisida nabati (botani) karena terbukti bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Semakin tinggi konsentrasi granula ekstrak biji alpukat, maka semakin tinggi pula mortalitas larva *Aedes aegypti* L. Rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terendah (55%), ditunjukkan oleh konsentrasi paling minimum (50 ppm), sedangkan rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tertinggi (83,33%) ditunjukkan oleh konsentrasi granula ekstrak biji alpukat tertinggi (100 ppm). Kematian larva *Aedes aegypti* L. dalam penelitian ini disebabkan oleh aktivitas dari senyawa saponin yang terkandung dalam biji alpukat. Granula ekstrak biji alpukat bersifat racun perut, racun kontak, dan racun penghambat metamorfosis terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diperoleh kesimpulan bahwa LC_{50} dalam waktu dedah 24 jam adalah 37,89 ppm, sedangkan LT_{50} granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada konsentrasi 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm berturut-turut adalah 20,37; 16,90; 14,12; 14,09; 12,92; dan 12,34 jam. Hendaknya perlu dilakukan penelitian pembuatan granula ekstrak biji alpukat yang lebih praktis dan lebih tahan lama tanpa mengurangi toksisitas senyawa yang terkandung dalam biji alpukat.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
PRAKATA	viii
RINGKASAN	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Umum tentang Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	6
2.1.1 Klasifikasi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	6
2.1.2 Morfologi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	7
2.1.3 Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	11
2.1.4 Perbedaan Telur, Larva, Pupa, dan Imago pada Nyamuk <i>Aedes, Anopheles, dan Culex</i>	13

2.1.5 Habitat Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	15
2.1.6 Perilaku Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	16
2.1.7 Suhu untuk Kehidupan Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	17
2.1.8 Kelembaban untuk Kehidupan Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L..	17
2.1.9 Pengendalian Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	18
2.1.9.1 Pengendalian secara Kimia	18
2.1.9.2 Pengendalian secara Mekanis	18
2.1.9.3 Pengendalian secara Biologi	19
2.2 Tinjauan Umum tentang Mortalitas	19
2.3 Tinjauan Umum tentang Insektisida Nabati (Insektisida Botani)	19
2.3.1 Pembuatan Insektisida Nabati (Insektisida Botani).....	20
2.3.2 Keunggulan dan Kelemahan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)	20
2.3.2.1 Keunggulan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)	21
2.3.2.2 Kelemahan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)	21
2.3.3 Penggolongan Insektisida Nabati (Insektisida Botani) menurut Cara Masuk dan Cara Kerja pada Serangga Sasaran	21
2.4 Tinjauan Umum tentang Toksisitas	23
2.4.1 Toksisitas Insektisida	24
2.5 Tinjauan Umum tentang Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).	25
2.5.1 Klasifikasi Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	25
2.5.2 Morfologi Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	25
2.5.3 Manfaat Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	28
2.5.4 Komposisi Kimia Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	30

2.6 Tinjauan Umum tentang Saponin	31
2.6.1 Mekanisme Kerja Saponin dalam Mengakibatkan Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	32
2.7 Tinjauan Umum tentang Granula	32
2.8 Tinjauan Umum tentang Ekstraksi	33
2.8.1 Pengertian Ekstraksi.....	33
2.8.2 Metode Ekstraksi	33
2.8.2.1 Ekstraksi Cara Dingin	34
2.8.2.2 Ekstraksi Cara Panas	34
2.9 Hipotesis	35
2.10 Kerangka Teori	36
BAB 3. METODE PENELITIAN	37
3.1 Jenis Penelitian	37
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	37
3.3 Objek Penelitian	37
3.4 Variabel Penelitian	37
3.4.1 Variabel Bebas	37
3.4.2 Variabel Terikat	38
3.4.3 Variabel Kendali	38
3.5 Rancangan Penelitian	39
3.6 Definisi Operasional	40
3.7 Populasi dan Sampel	41
3.7.1 Populasi	41
3.7.2 Sampel	41
3.8 Alat dan Bahan Penelitian	41
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) ...	41
3.8.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	42

3.8.3 Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)..	42
3.8.4 Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva <i>Aedes aegypti</i> L.	43
3.8.5 Uji Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	43
3.9 Prosedur Penelitian	43
3.9.1 Penyiapan Larva Uji	43
3.9.2 Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) ..	45
3.9.3 Pembuatan Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	46
3.9.4 Tahap Pembuatan Serial Konsentrasi	47
3.9.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Biji Alpukat <i>Persea americana</i> Mill.)	47
3.9.6 Uji Pendahuluan	48
3.9.7 Uji Akhir	50
3.9.8 Parameter yang Diamati.....	52
3.10 Analisis Data Hasil Penelitian	52
3.11 Alur Penelitian	54
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	55
4.1 Hasil Penelitian	55
4.1.1 Identifikasi Morfologi Telur dan Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	55
4.1.2 Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan Identifikasi Kandungan Senyawa Toksik Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	57
4.1.3 Hasil Uji Pendahuluan	58
4.1.4 Hasil Pengujian Akhir	60
4.1.5 Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Sebelum dan Sesudah Diberi Perlakuan	62

4.2 Analisis Data	64
4.3 Pembahasan	66
4.3.2 Identifikasi Morfologi Telur Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ..	67
4.3.2 Identifikasi Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. ..	67
4.3.3 Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	70
4.3.4 Gejala Keracunan Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. Akibat Pengaruh Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	74
4.3.5 Pengaruh Faktor Lingkungan Penelitian terhadap Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.	81
4.3.6 Keamanan Granula Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) terhadap Non Target	82
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	84
5.1 Kesimpulan	84
5.2 Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	
MATRIKS PENELITIAN	93
FOTO ALAT DAN BAHAN PENELITIAN	95
FOTO PENELITIAN	97
HASIL UJI PENDAHULUAN	100
HASIL UJI AKHIR	101
HASIL ANALISIS PROBIT LC₅₀ DAN LT₅₀	103
HASIL ANALISIS RATA-RATA MORTALITAS DAN FAKTOR LINGKUNGAN (SUHU DAN KELEMBABAN)	120
SURAT PENELITIAN	121
LEMBAR KONSULTASI	126

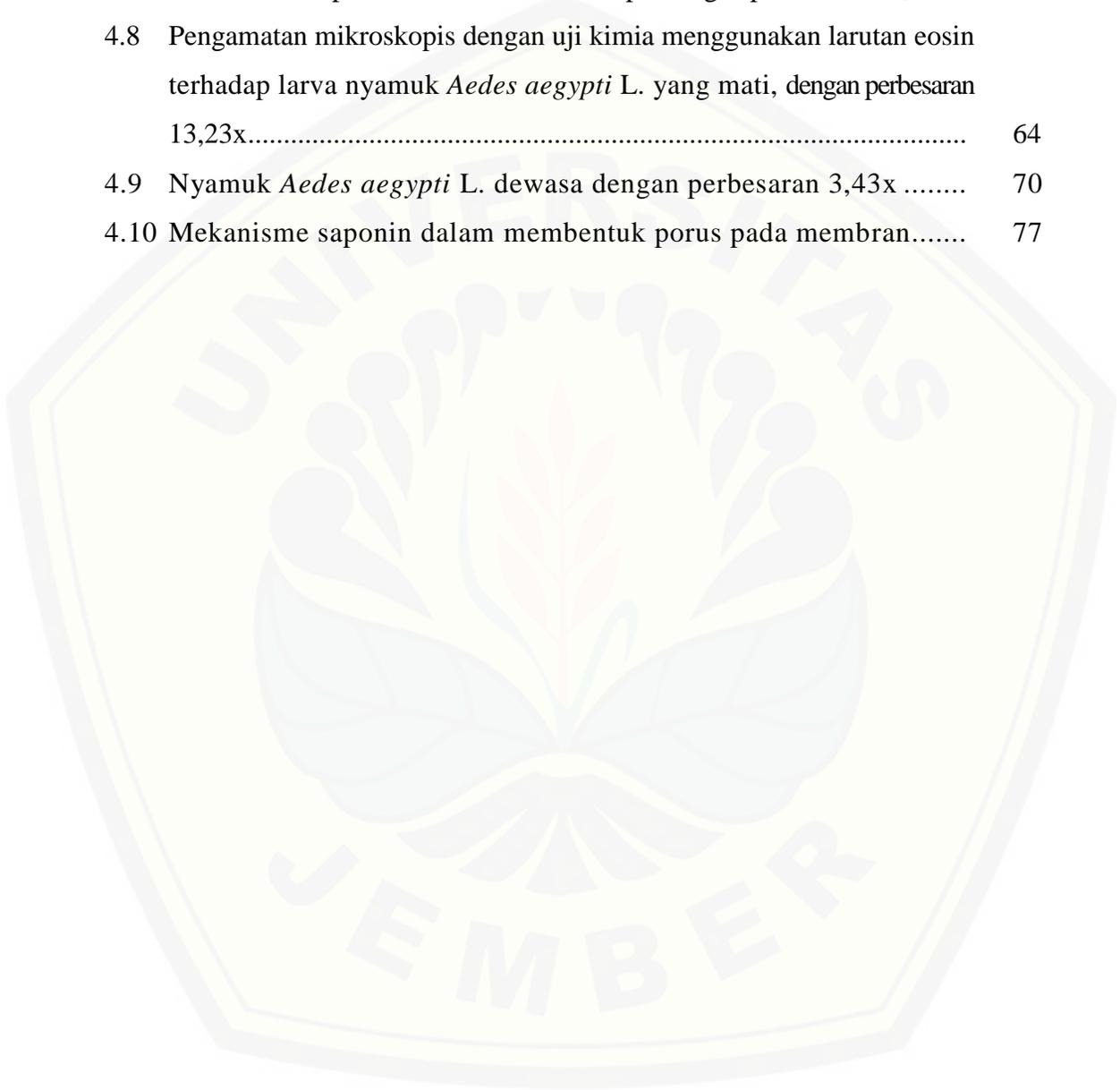
DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Daftar Istilah Toksisitas	24
2.2 Kandungan Kimia dari Daun, Buah, dan Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	31
3.1 Rancangan Uji Pendahuluan	49
3.2 Rancangan Uji Akhir	51
4.1 Karakteristik Morfologi Telur <i>Aedes aegypti</i> L.	56
4.2 Karakteristik Morfologi Larva <i>Aedes aegypti</i> L. Instar III Akhir – IV Awal	57
4.3 Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Pendahuluan dengan Waktu Dedah 24 Jam.....	59
4.4 Mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Waktu Dedah 24 Jam	60
4.5 Hasil Pengamatan Suhu (°C) dan Kelembaban (%) Ruangan Laboratorium Selama Pengujian Akhir.....	62
4.6 Hasil Pengamatan Suhu (°C) Air yang Digunakan untuk Penetasan Telur <i>Aedes aegypti</i> L.	62
4.7 Hasil Analisis Probit LC ₅₀ dengan Waktu Dedah 24 Jam.....	64
4.8 Hasil Analisis Probit Perbandingan LT ₅₀ Kontrol Positif (Abate 50 ppm) dengan LT ₅₀ Granula Ekstrak Biji Alpukat 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm dalam Waktu Dedah 24 jam...	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi telur <i>Aedes aegypti</i> L. dengan perbesaran 86x	7
2.2 Morfologi larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan perbesaran 100x.....	8
2.3 Morfologi pupa nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan perbesaran 100x.....	9
2.4 Morfologi nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. jantan dan betina dewasa	10
2.5 Struktur kepala nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. yang menunjukkan ciri-ciri kelamin	11
2.6 Siklus hidup <i>Aedes aegypti</i> L. dengan Perbesaran 1,24x	12
2.7 Perbedaan telur, larva, pupa, imago <i>Anopheles</i> , <i>Aedes</i> , dan <i>Culex</i>	14
2.8 Tanaman alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dengan perbesaran 0,6x ...	26
2.9 Kerangka teori	36
3.1 Skema rancangan penelitian	39
3.2 Alur penelitian	54
4.1 Telur nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 66x (A), koloni telur <i>Aedes aegypti</i> L. dengan perbesaran 2x (B)	55
4.2 Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. instar III akhir dengan perbesaran 20x	56
4.3 Ekstrak biji alpukat dengan perbesaran 0,55x (A), granula ekstrak biji alpukat dengan perbesaran 0,45x (B)	57
4.4 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak biji alpukat dengan perbesaran 0,63x	58
4.5 Grafik hubungan antara rerata mortalitas (%) larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dalam waktu dedah 24 Jam	61
4.6 Perbandingan antara larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. sebelum dan sesudah diberi perlakuan secara makroskopis pada perbesaran	

9,09x.....	63
4.7 Perbandingan antara larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. sebelum dan sesudah diberi perlakuan secara mikroskopis dengan perbesaran 11,27x..	63
4.8 Pengamatan mikroskopis dengan uji kimia menggunakan larutan eosin terhadap larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. yang mati, dengan perbesaran 13,23x.....	64
4.9 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dewasa dengan perbesaran 3,43x	70
4.10 Mekanisme saponin dalam membentuk porus pada membran.....	77



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian	93
B. Foto Alat dan Bahan Penelitian	95
C. Foto Penelitian	97
D. Hasil Uji Pendahuluan	100
E. Hasil Uji Akhir.....	101
F. Hasil Analisis Probit LC_{50} dan LT_{50}	103
G. Hasil Analisis Rata-Rata Mortalitas dan Faktor Lingkungan (Suhu dan Kelembaban)	120
H. Surat Penelitian	121
I. Lembar Konsultasi	126

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus *dengue* dan merupakan vektor utama penyebab penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) di Indonesia. Penyebaran jenis penyakit ini sangat luas, meliputi hampir semua daerah tropis di seluruh dunia (Soegijanto, 2004: 99). Upaya penanggulangan DBD menggunakan *vaccine virus dengue* yang telah dikembangkan hingga saat ini keberhasilannya masih menemui kendala (*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*, 2007), sehingga penanggulangannya sangat bergantung pada program pengendalian vektor (WHO, 2004). Pengendalian vektor sampai saat ini masih dititikberatkan pada penggunaan insektisida kimia sintetis (Naria, 2005: 28).

Penggunaan insektisida sintetis pada kurun waktu 40 tahun terakhir semakin meningkat baik dari kualitasnya maupun kuantitasnya. Hal ini disebabkan insektisida sintetis tersebut mudah digunakan, lebih efektif dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan (Yoshida dan Toscano dalam Nursal, 2005: 1), tetapi efek yang ditinggalkannya adalah berupa residu yang dapat masuk ke dalam komponen lingkungan karena bahan aktif sangat sulit sekali terurai di alam, resistensi serangga sasaran sehingga memungkinkan berkembangnya *strain* baru, dan efek lain yang tidak diinginkan terhadap manusia dan binatang peliharaan (Naria, 2005: 28).

Usaha untuk mengurangi dampak negatif yang ditimbulkan oleh insektisida sintetis sangat diperlukan, yaitu dengan mencari insektisida alternatif yang lebih efektif dalam mengendalikan vektor, mudah terdegradasi, dan mempunyai dampak yang kecil terhadap lingkungan. Insektisida alternatif tersebut diharapkan menjadi jawaban terhadap ajakan pemerintah untuk memasuki era akhir abatesasi. Insektisida alternatif yang akan dikembangkan juga harus mampu untuk diaplikasikan tidak hanya dalam skala laboratorik, melainkan secara luas (langsung ke lapangan).

Salah satu insektisida alternatif yang berpotensi dalam mengendalikan populasi serangga adalah insektisida nabati. Jenis insektisida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan ternak peliharaan karena residunya mudah hilang (Kardinan, 2004).

Prakash dan Rao (1997) melaporkan bahwa ada lebih dari 1000 spp. tumbuhan yang memiliki kemampuan sebagai insektisida, lebih dari 380 spp. mengandung zat pencegah makan (*antifeedant*), lebih dari 35 spp. mengandung akarisisida, dan lebih dari 30 spp. mengandung zat penghambat pertumbuhan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai insektisida adalah alpukat (*Persea americana* Mill.).

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh Zuhrotun (2007: 12) terhadap simplisia dan ekstrak etanol biji alpukat menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, tanin, monoterpenoid, seskuiterpenoid, dan saponin. Saponin adalah senyawa yang paling banyak terkandung dalam biji alpukat (Arukwe, *et al.*, 2012: 347). Aktivitas pestisidal dari saponin sudah banyak dilaporkan. Glikosida saponin sangat beracun bagi hewan berdarah dingin, tetapi tidak pada mammalia. Ekstrak tanaman yang mengandung persentase saponin yang tinggi telah umum digunakan di Afrika untuk air persediaan yang terkontaminasi vektor penyakit; setelah itu, air tersebut aman untuk diminum manusia (Hall dan Walker dalam Wiesman dan Chapagain, 2003: 169). Aktivitas dari saponin menurut Cheeke (1971: 624) adalah menghambat enzim dalam saluran pencernaan sehingga menurunkan kemampuan dalam mencerna nutrien tertentu (mengganggu penyerapan makanan).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa biji alpukat yang mengandung beberapa senyawa aktif mempunyai kemampuan antiprotozoal, anti giardiasis, antitripanosidal, dan antimikrobal. Uji toksisitas ekstrak biji alpukat segar maupun kering terhadap larva *Artemia salina* menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar

34,302 mg/L hingga 42,270 mg/L. Nilai ini menunjukkan bahwa biji buah alpukat bersifat toksik (Marlinda, dkk., 2012: 28). Ekstrak biji alpukat juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai larvasida terhadap *Aedes aegypti* L. dengan LC₅₀ sebesar 16,7 mg/L (Leite, *et al.*, 2009: 112).

Penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan larvasidal ekstrak biji alpukat terhadap *Aedes aegypti* L. menurut peneliti perlu dilakukan karena ekstrak biji alpukat memiliki kelemahan untuk dapat diaplikasikan secara langsung. Pertama, ekstrak dapat mengotori perairan apabila diaplikasikan ke dalam air. Kedua, dalam proses penyimpanannya ekstrak tidak tahan terhadap pengaruh udara. Untuk itu perlu diusahakan suatu cara untuk menanggulangi permasalahan tersebut. Salah satunya adalah memproses ekstrak menjadi sediaan granula. Granula adalah gumpalan-gumpalan dari partikel-partikel yang lebih kecil dan merupakan sediaan dasar farmasi yang selanjutnya dapat diproses menjadi sediaan jadi farmasi yang lebih stabil sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu lama, seperti serbuk, tablet, kapsul, dan suppositoria (Ansel, 1989).

Penelitian lanjutan ini memiliki perbedaan dengan penelitian-penelitian terdahulu yang terletak pada bahan yang akan diuji tingkat toksisitasnya. Penelitian terdahulu hanya mengujikan ekstrak biji alpukat terhadap objek penelitian, sedangkan penelitian ini memproses senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak pekat biji alpukat dengan eksipien berupa maltodekstrin sebagai bahan pengisi, agar diperoleh sediaan granula. Sediaan granula lebih tahan terhadap pengaruh udara dan tidak mengotori perairan. Penelitian mengenai toksisitas granula ekstrak biji alpukat terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang diaplikasikan seperti bubuk abate juga belum pernah dilakukan, sehingga penulis ingin melakukan penelitian dengan judul **“Toksitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.”**.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka permasalahan dirumuskan sebagai berikut:

- a. Apakah granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki efek toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L.?
- b. Berapakah besar toksisitas (*Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) dan *Lethal Time* 50 (LT₅₀) granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam?

1.3 Batasan Masalah

Agar rumusan masalah yang telah dijabarkan sebelumnya tidak meluas dan sesuai dengan tujuan yang diharapkan, maka perlu adanya pembatasan masalah yang dititikberatkan pada:

- a. Toksisitas dalam penelitian ini adalah besarnya LC₅₀ dan LT₅₀ granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam.
- b. Biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang digunakan merupakan biji dari buah alpukat (*Persea americana* Mill.) varian merah panjang yang sudah matang (berat buah antara 300–500 g, diameter 7–10 cm, panjang 12–18 cm, dan kulit buah berwarna merah kehitaman).
- c. Alpukat yang digunakan merupakan varian alpukat merah panjang yang didapat dari Desa Kajarharjo, Kecamatan Kalibaru, Kabupaten Banyuwangi.
- d. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah etanol 96%.
- e. Bahan pengisi yang digunakan dalam pembuatan granula adalah maltodekstrin.
- f. Toksikron yang diharapkan memiliki efek toksik adalah granula ekstrak biji alpukat, dengan kandungan saponin yang terkandung di dalamnya.
- g. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang digunakan dalam penelitian ini adalah instar III akhir hingga instar IV awal *strain* Surabaya yang diperoleh dari Laboratorium *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga Surabaya.

1.4 Tujuan Penelitian

- a. Menguji efek toksik granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
- b. Menganalisis besarnya toksisitas (LC_{50}) dan LT_{50} granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan waktu dedah 24 jam.

1.5 Manfaat Penelitian

- a) Bagi lembaga, khususnya FKIP Program Studi Biologi dan perkembangan ilmu pengetahuan, memperkaya wacana sains serta memberikan informasi ilmiah yang bermanfaat di bidang Biologi, khususnya pengetahuan mengenai pemanfaatan ekstrak granula biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai pengendali larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
- b) Bagi peneliti, menambah khasanah keilmuan mengenai pemanfaatan granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai pengendali larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
- c) Bagi masyarakat, memberi masukan dalam memanfaatkan insektisida nabati yang aman dan mudah didapat dalam upaya pengendalian larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum tentang Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Aedes aegypti merupakan nyamuk yang dapat berperan sebagai vektor berbagai macam penyakit diantaranya Demam Berdarah *Dengue* (DBD). Walaupun beberapa spesies dari *Aedes* sp. dapat pula berperan sebagai vektor, tetapi *Aedes aegypti* tetap merupakan vektor utama dalam penyebaran penyakit Demam Berdarah *Dengue* (Soegijanto, 2004: 99).

2.1.1 Klasifikasi Nyamuk *Aedes aegypti* L.

ITIS (2014), mengklasifikasikan nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Protostomia
Superfilum	: Ecdysozoa
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Hexapoda
Kelas	: Insekta
Subkelas	: Pterygota
Infrakelas	: Neoptera
Superordo	: Holometabola
Ordo	: Diptera
Subordo	: Nematocera
Infraordo	: Culicomorpha
Famili	: Culicidae
Subfamili	: Culicinae
Genus	: <i>Aedes</i>
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i> L.

2.1.2 Morfologi Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. dikenal dengan sebutan *black-white mosquito* atau *tiger mosquito* karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar warna hitam (Soegijanto, 2004: 99). Berikut adalah morfologi dari masing-masing tahap perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* L.:

a) Telur

Telur *Aedes aegypti* L. berbentuk elips atau oval memanjang, warna hitam, ukuran 0,5 – 0,8 mm, permukaan poligonal, tidak memiliki alat pelampung, dan diletakkan satu persatu pada benda yang terapung atau pada dinding bagian dalam Tempat Penampungan Air (TPA). Dilaporkan bahwa dari telur yang dilepas, sebanyak 85% melekat di dinding TPA, sedangkan 15% lainnya jatuh ke permukaan air (Soegijanto, 2004: 100). Telur dapat bertahan hidup dalam waktu yang cukup lama dalam bentuk dorman (Sembel, 2009: 52). Apabila diamati dengan mikroskop fase kontras pembesaran 400x terlihat adanya bagian *exochorion* yang bergaris-garis seperti anyaman yang tidak teratur (mirip dengan sarang lebah) (Wahyuni, 1988: 32).

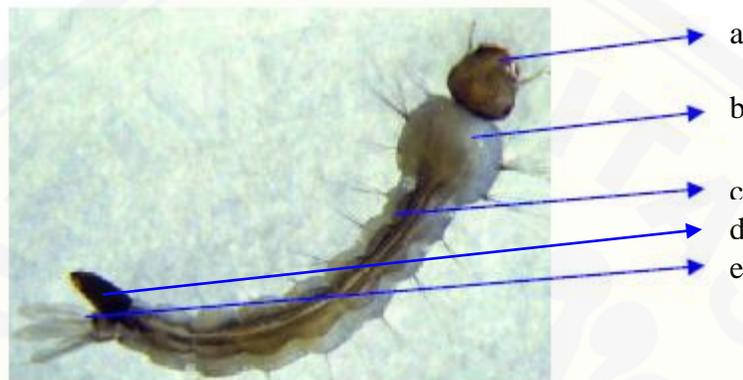


Gambar 2.1 Morfologi Telur *Aedes aegypti* L. dengan Perbesaran 86x
Sumber: Zettel dan Kaufman, 2011

b) Jentik (Larva)

Larva nyamuk memerlukan empat tingkatan (instar), dan lamanya setiap instar berkisar 2 hari serta ukuran setiap instar berbeda. Waktu perkembangan larva

tergantungan pada suhu, ketersediaan makanan, dan keberadaan larva dalam sebuah kontainer. Dalam kondisi optimal, waktu yang dibutuhkan telur menetas hingga menjadi nyamuk dewasa adalah tujuh hari, termasuk dua hari dalam masa pupa, sedangkan pada suhu rendah telur membutuhkan waktu penetasan selama beberapa minggu untuk dapat menjadi nyamuk dewasa (WHO, 2004: 60).



Gambar 2.2 Morfologi Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan Perbesaran 100x
a. Kepala; b. Toraks; c. Abdomen; d. Corong pernapasan; e. Insang Ekor
Sumber: Ningsih, 2012

Larva *Aedes aegypti* L. mengalami 4 kali pergantian kulit (ekdisis), dan larva yang terbentuk berturut-turut disebut larva instar I, II, III, dan IV. Larva instar I sangat kecil, berwarna transparan, panjang tubuhnya 1-2 mm, duri pada dada belum jelas, corong pernapasan belum menghitam. Larva instar II bertambah besar ukurannya 2-4 mm, duri-duri di dada belum jelas, corong pernapasan mulai menghitam. Larva instar III lebih panjang, ukurannya 4-5 mm, duri-duri di dada sudah jelas, corong pernapasan sudah berwarna hitam. Larva instar IV telah lengkap pertumbuhannya dengan panjang badan 5-7 mm, pada kepala terdapat sepasang mata, sepasang antena, tanpa duri-duri, dan mulut tipe mengunyah (Wahyuni, 1998: 14-15).

Bagian dada larva instar IV tampak paling besar dan terdapat bulu-bulu yang simetris. Perut tersusun atas 8 ruas. Pada ruas perut ke-8, terdapat alat untuk bernapas yang disebut corong pernapasan. Corong pernapasan tanpa duri-duri, berwarna hitam dan ada seberkas bulu-bulu (*tuft*). Ruas ke-8 juga dilengkapi dengan seberkas bulu-

bulu sikat (*brush*) di bagian ventral dan gigi-gigi sisir (*comb*) yang berjumlah 15–19 gigi yang tersusun dalam satu baris. Gigi-gigi sisir dengan lengkungan yang jelas membentuk gerigi. Larva ini tubuhnya langsing dan bergerak sangat lincah, bersifat fototaksis negatif. Ketika beristirahat, larva ini membentuk sudut hampir tegak lurus dengan bidang permukaan air (Soegijanto, 2004: 101).

c) Pupa

Pupa bentuk tubuhnya bengkok, dengan bagian kepala-dada (*cephalothorax*) lebih besar apabila dibandingkan dengan bagian perutnya, sehingga tampak seperti tanda baca “koma” (Soegijanto, 2004: 101).



Gambar 2.3 Morfologi Pupa Nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan Perbesaran 100x
Sumber: Ningsih, 2012

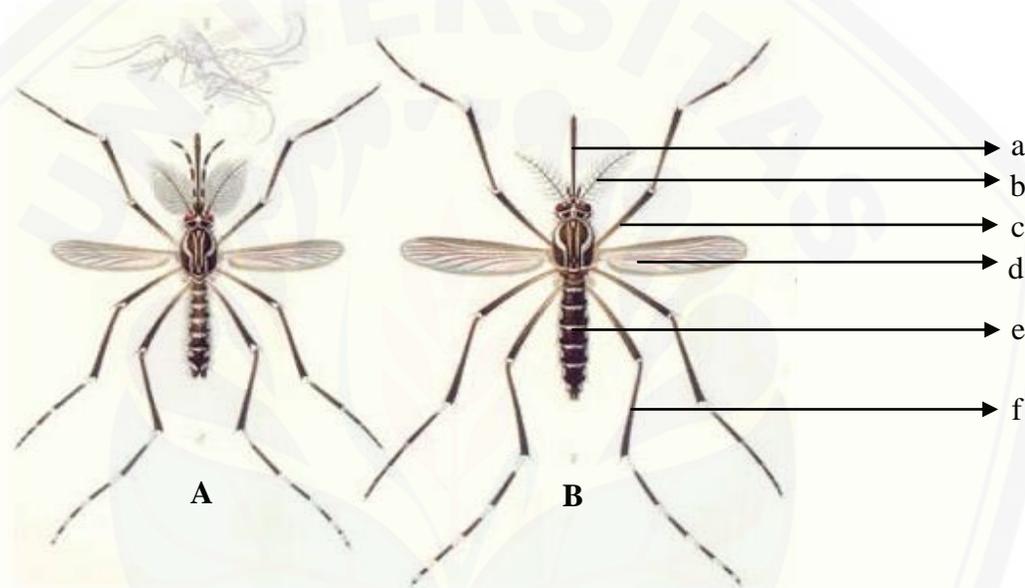
Pada bagian punggung (*dorsal*) dada terdapat alat bernapas seperti terompet. Pada ruas perut ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Alat pengayuh tersebut berjumbai panjang dan bulu di nomor 7 pada ruas perut ke-8 tidak bercabang. Pupa adalah bentuk tidak makan. Waktu istirahat posisi pupa sejajar dengan bidang permukaan air (Soegijanto, 2004: 101).

d) Nyamuk Dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* L. tubuhnya tersusun dari tiga bagian yaitu kepala, dada dan perut. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk dan antena yang berbulu. Alat mulut nyamuk betina tipe penusuk-pengisap (*piercing-sucking*) mempunyai enam stilet yaitu gabungan antara mandibula, maksilla yang bergerak

naik turun menusuk jaringan sampai menemukan pembuluh darah kapiler dan mengeluarkan ludah yang berfungsi sebagai cairan racun dan antikoagulan (Sembel, 2009: 11).

Nyamuk betina termasuk lebih menyukai manusia (*anthropophagus*), sedangkan nyamuk jantan bagian mulut lebih lemah sehingga tidak mampu menembus kulit manusia, karena itu tergolong lebih menyukai cairan tumbuhan (*phytophagus*) (Soegijanto, 2004: 102).

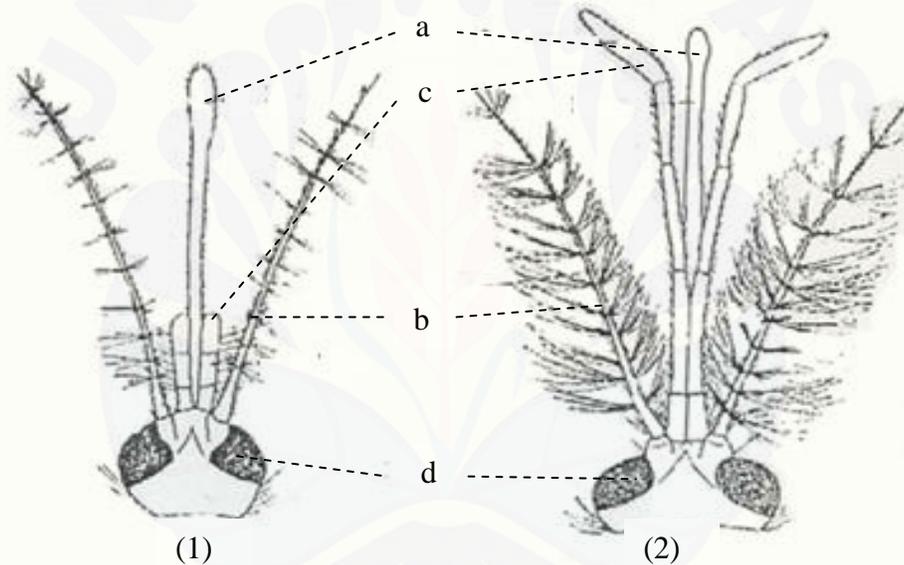


Gambar 2.4 Morfologi Nyamuk *Aedes aegypti* L. Jantan (A) dan Betina (B) Dewasa
 a. *Proboscis*; b. Antena; c. Tungkai Depan; d. Sayap; e. Punggung (mesonotum); f. Tungkai Belakang, dengan Perbesaran 0,92x
 Sumber: Costa Rica Guide, 2013

Nyamuk betina mempunyai antena tipe-pilose, sedangkan nyamuk jantan tipe plumose. Dada nyamuk ini tersusun dari 3 ruas, protoraks, mesotoraks, dan metatoraks. Setiap ruas dada ada sepasang kaki yang terdiri dari *femur* (paha), *tibia* (betis) dan *tarsus* (tapak). Pada ruas-ruas kaki ada gelang-gelang putih, tetapi pada bagian *tibia* kaki belakang tidak ada gelang putih. Pada bagian dada juga terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggung (*mesonotum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain. Gambaran punggung nyamuk berupa sepasang garis lengkung putih (bentuk: *lyre*) pada tepinya

dan sepasang garis submedian di tengahnya. Perut terdiri dari 8 ruas dan pada ruas-ruas tersebut terdapat bintik-bintik putih. Waktu istirahat posisi nyamuk *Aedes aegypti* L. ini tubuhnya sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapinya (Soegijanto, 2004: 102).

Nyamuk jantan dan betina tidak memiliki perbedaan nyata dalam hal ukuran. Biasanya, nyamuk jantan memiliki tubuh lebih kecil daripada betina, dan terdapat rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan (Gambar 2.5). Kedua ciri ini dapat diamati dengan mata telanjang (Ginanjari, 2003: 20).

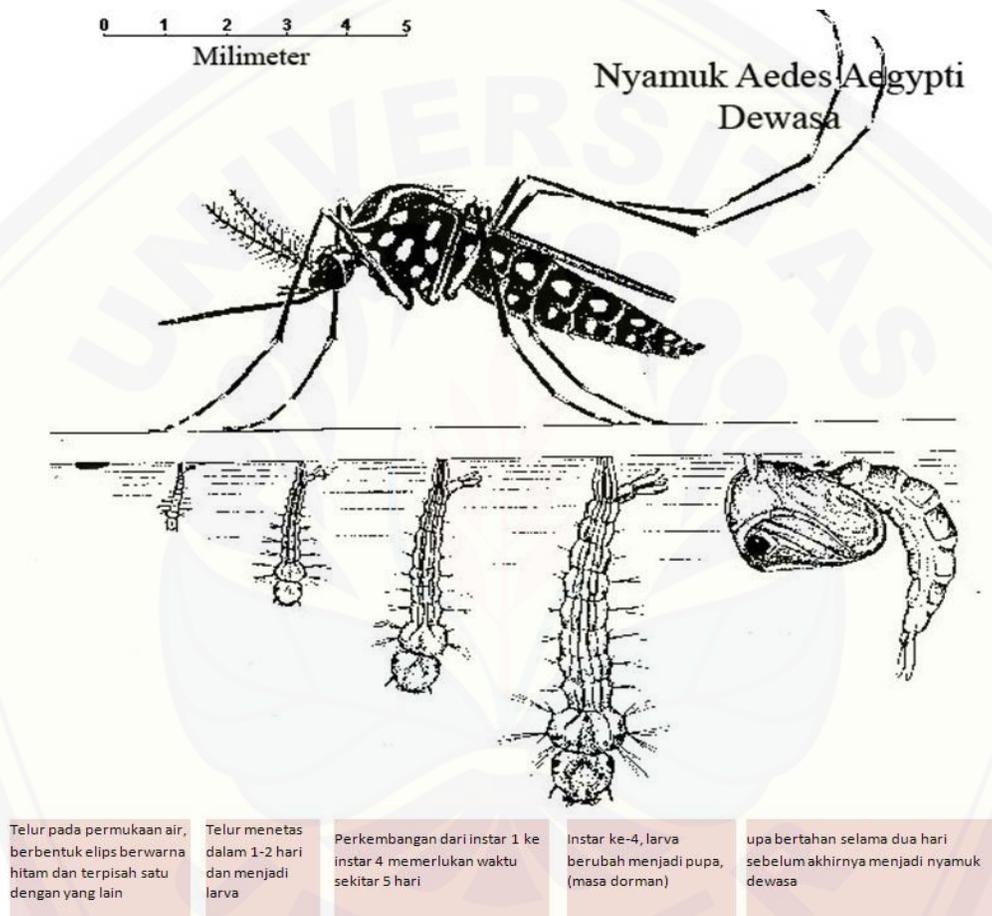


Gambar 2.5 Struktur Kepala Nyamuk *Aedes aegypti* L. yang Menunjukkan Ciri-Ciri Kelamin. (1) *Aedes aegypti* L. betina. (2) *Aedes aegypti* L. jantan
a. Probosis, b. Sungut, c. Palpus Maksilla, d. Mata Majemuk, dengan Perbesaran 1,4x
Sumber: Borror, *et al.*, 1992: 673

2.1.3 Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk memiliki metamorfosis sempurna (holometabola). Siklus hidup mereka terdiri dari empat tahap yaitu telur, larva (jentik), pupa dan imago (dewasa) (Kardianan, 2004: 2). Stadium telur, jentik, dan kepompong hidup di dalam air (akuatik), sedangkan nyamuk hidup di udara bebas (terrestrial) (Sembiring, 2009: 9).

Selama masa bertelur, seekor nyamuk betina mampu meletakkan 100 - 400 butir telur. Biasanya telur-telur tersebut diletakkan di bagian yang berdekatan dengan permukaan air, misalnya di bak yang airnya jernih, dan tidak berhubungan langsung dengan tanah.



Gambar 2.6 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L. dengan Perbesaran 1,24x
Sumber: Eva, 2013

Telur menetas menjadi larva (jentik) setelah tujuh hari (Kardinan, 2004: 3). Pada umumnya telur akan menetas menjadi jentik dalam waktu kira-kira 2 hari setelah telur terendam air (Sembiring, 2009: 9). Posisi jentik nyamuk demam berdarah tersebut berada di dalam air. Jentik menjadi sangat aktif, yaitu membuat

gerakan ke atas dan ke bawah jika air terganggu, namun jika sedang beristirahat, jentik akan diam dan tubuhnya membentuk sudut terhadap permukaan air. Jentik akan mengalami empat kali proses pergantian kulit (instar). Proses ini memerlukan waktu 7 – 9 hari. Setelah itu, jentik berubah menjadi pupa. Pupa merupakan stadium terakhir calon nyamuk demam berdarah yang ada di dalam air. Bentuk tubuh pupa bengkak dan kepalanya besar. Fase pupa membutuhkan waktu 2 – 5 hari. Suhu untuk perkembangan pupa yang optimal sekitar 27-30 °C, tidak memerlukan makanan tetapi memerlukan udara. Pada stadium pupa ini akan dibentuk alat-alat tubuh nyamuk seperti sayap, kaki, alat kelamin, dan bagian tubuh lainnya (Sitio, 2008: 24). Setelah melewati fase itu, pupa akan keluar dari kepompong (eklosi) menjadi nyamuk yang dapat terbang dan keluar dari air.

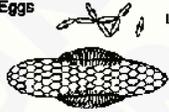
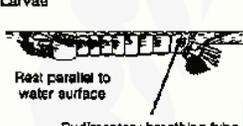
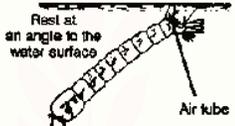
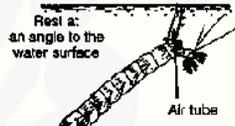
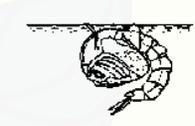
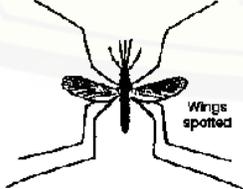
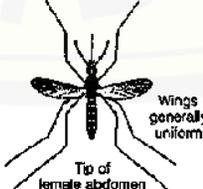
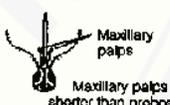
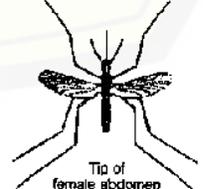
Nyamuk demam berdarah mempunyai lingkaran putih di pergelangan kaki dan bintik-bintik putih di tubuhnya. Di alam, nyamuk berumur 7 – 10 hari, tetapi di laboratorium dengan kondisi lingkungan yang optimal dan makanan yang cukup, nyamuk dapat bertahan hidup hingga satu bulan (Kardinan, 2004: 4).

2.1.4 Perbedaan Telur, Larva, Pupa, dan Imago pada Nyamuk *Aedes*, *Anopheles*, dan *Culex*

Famili Culcidae dibagi dalam dua sub famili yaitu Anophelinae (genus *Anopheles* yang banyak) dan Culicinae (termasuk golongan *Theobaldia*, *Mansonia*, *Aedes*, dan *Culex*) mempunyai spesies yang merupakan vektor penyakit untuk manusia. Genus yang penting dalam bidang kesehatan adalah *Anopheles*, *Aedes* dan *Culex*. Spesies dalam genus *Anopheles* merupakan vektor penyakit malaria, sedangkan genus *Aedes* sebagai vektor utama penyakit demam berdarah dan demam kuning (*yellow fever*) dan spesies dalam genus *Culex* merupakan vektor dari beberapa penyakit protozoa, cacing, dan virus (Geocities, 2006).

Telur dari jenis *Culex* biasa diletakkan berkelompok (*raft*). Dalam satu kelompok dapat terdapat puluhan atau ratusan butir telur. Nyamuk *Anopheles* dan *Aedes* meletakkan telur di atas permukaan air satu per satu. Telur dapat bertahan

hidup dalam waktu yang cukup lama dalam bentuk dorman, namun apabila air cukup tersedia, telur-telur itu biasanya menetas 2-3 hari sesudah diletakkan (Sembel, 2009: 52). Menurut Brown (1979: 423) bentuk telur antar spesies tersebut berbeda-beda. Nyamuk *Anopheles* memiliki bentuk telur yang menyerupai perahu dengan pelampung dari *chorion* yang berlekuk-lekuk di sebelah lateral. Telur *Culex* memiliki bentuk yang meruncing dengan puncak berupa mangkok dan melekat satu sama lainnya menyerupai rakit sedangkan telur *Aedes* berbentuk seperti torpedo, oval memanjang, elips dan mempunyai permukaan yang poligonal.

<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Eggs  Laid singly Has floats	Eggs  Laid singly No floats	Eggs  Laid in rafts No floats
Larvae  Rest parallel to water surface Rudimentary breathing tube	Larvae  Rest at an angle to the water surface Air tube Short, stout breathing tube with one pair of hair tufts	Larvae  Rest at an angle to the water surface Air tube Long, slender breathing tube with several pairs of hair tufts
Pupae (differ only slightly) 		
Adult Proboscis and body in same straight line  Maxillary palps Maxillary palps as long as proboscis  Wings spotted 	Proboscis and body at an angle to one another  Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis  Wings generally uniform  Tip of female abdomen usually pointed	Proboscis and body at an angle to one another  Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis  Tip of female abdomen usually blunt 

Gambar 2.7 Perbedaan Telur, Larva, Pupa, Imago *Anopheles*, *Aedes*, dan *Culex* (Sumber: Isna, 2013)

Telur menetas menjadi larva atau sering juga disebut jentik. Larva dari kebanyakan nyamuk menggantungkan dirinya pada permukaan air. Untuk mendapatkan oksigen dari udara, jentik-jentik nyamuk *Culex* dan *Aedes* biasanya menggantungkan tubuhnya agak tegak lurus pada permukaan air, sedangkan *Anopheles* biasanya secara horizontal atau sejajar dengan permukaan air. Larva biasanya melakukan pergantian kulit empat kali dan berpupasi sesudah sekitar 7 hari. Apabila perkembangan pupa sudah sempurna, maka kulit pupa pecah dan nyamuk dewasa keluar serta terbang (Sembel, 2009: 52).

Dalam keadaan istirahat. Bentuk dewasa dari *Culex* dan *Aedes* hinggap dalam keadaan sejajar dengan permukaan, sedangkan *Anopheles* hinggap agak tegak lurus dengan permukaan (Sembel, 2009: 53).

2.1.5 Habitat Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. umumnya memiliki habitat di lingkungan perumahan, tempat terdapat banyak penampungan air bersih dalam bak mandi ataupun tempayan yang menjadi sarang berkembangbiaknya. Nyamuk ini sangat suka tinggal dan berbiak di genangan air bersih yang tidak berkontak langsung dengan tanah. Vektor penyakit DBD ini diketahui banyak bertelur di genangan air yang terdapat pada sisa-sisa kaleng bekas, tempat penampungan air, bak mandi, ban bekas, maupun benda-benda lain yang mampu menampung sisa air hujan (Ginanjari, 2003: 26).

Aedes aegypti L. suka beristirahat di tempat yang gelap, lembab, dan tersembunyi di dalam rumah atau bangunan, termasuk di kamar tidur, kamar mandi, kamar kecil, maupun di dapur. Nyamuk ini jarang ditemukan di luar rumah, di tumbuhan, atau di tempat terlindung lainnya. Di dalam ruangan, permukaan istirahat yang mereka suka adalah di bawah *furniture*, benda yang tergantung seperti baju dan korden, serta di dinding (WHO, 2004: 61).

2.1.6 Perilaku Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. bersifat diurnal (Ginancar, 2003: 23). Nyamuk betina memiliki dua periode aktivitas menggigit, pertama di pagi hari selama beberapa jam setelah matahari terbit dan sore hari selama beberapa jam sebelum gelap. Puncak aktivitas menggigit yang sebenarnya dapat beragam bergantung lokasi dan musim. Jika masa makanannya terganggu, *Aedes aegypti* L. dapat menggigit lebih dari satu orang. Perilaku ini semakin memperbesar efisiensi penyebaran epidemi (WHO, 2004: 61).

Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang menghisap darah. Hal itu dilakukannya untuk memperoleh asupan protein, antara lain prostaglandin, yang diperlukannya untuk bertelur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah, dan memperoleh sumber energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan (Ginancar, 2003: 23). *Aedes aegypti* L. biasanya tidak menggigit di malam hari, tetapi akan menggigit saat malam di kamar yang terang (WHO, 2004: 61).

Ada dua faktor utama dalam penyebaran penyakit demam berdarah, yaitu vektor (nyamuk) dan sumber infeksi, dalam hal ini orang yang sakit dan masih mengandung virus aktif demam berdarah. Karena itu, orang yang digigit nyamuk demam berdarah betina belum tentu terjangkit penyakit demam berdarah karena nyamuk tersebut tidak membawa sumber penyakit. Artinya, jika tidak ada orang yang menderita penyakit demam berdarah di sekitar kita, nyamuk tidak akan menularkan penyakit itu, kecuali ada nyamuk yang terbawa dari daerah lain yang sudah terinfeksi virus demam berdarah. Umumnya penyebaran nyamuk demam berdarah tidak terlalu jauh, karena radius terbangnya hanya 100-200 meter, kecuali jika terbawa angin (Kardinan, 2004: 5). Akan tetapi, penelitian terbaru di Puerto Rico menunjukkan bahwa nyamuk ini dapat menyebar sampai lebih dari 400 meter terutama untuk mencari tempat bertelur (WHO, 2004: 61).

2.1.7 Suhu untuk Kehidupan Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Suhu udara merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi kehidupan *Aedes aegypti* L. Nyamuk *Aedes* akan meletakkan telurnya pada temperatur udara sekitar 20 – 30 °C. Telur yang diletakkan dalam air akan menetas pada 1 sampai 3 hari pada suhu 30 °C, tetapi pada suhu udara 16 °C dibutuhkan waktu selama 7 hari. Nyamuk dapat hidup pada suhu rendah tetapi proses metabolismenya menurun atau bahkan berhenti apabila suhu turun sampai di bawah suhu kritis. Pada suhu lebih tinggi dari 35 °C juga mengalami perubahan, dalam arti lebih lambatnya proses-proses fisiologi. Rata-rata suhu optimum untuk pertumbuhan nyamuk adalah 25 – 27 °C. Pertumbuhan nyamuk akan terhenti sama sekali pada suhu kurang dari 10 °C atau lebih dari 40 °C. Kecepatan perkembangan nyamuk tergantung dari kecepatan proses metabolismenya yang sebagian diatur oleh suhu. Karenanya kejadian-kejadian biologis tertentu seperti lamanya pradewasa, kecepatan pencernaan darah yang dihisap dan pematangan indung telur, dan frekuensi mengambil makanan atau menggigit, berbeda-beda menurut suhu, demikian pula lamanya perjalanan virus di dalam tubuh nyamuk (Sitio, 2008: 29-30).

2.1.8 Kelembaban untuk Kehidupan Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Selain suhu udara, kelembaban udara juga merupakan salah satu kondisi lingkungan yang dapat mempengaruhi perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* L. Kelembaban udara sangat mendukung dalam kelangsungan hidup nyamuk mulai dari telur, larva, pupa, hingga dewasa (Jumar dalam Simanjuntak, 2006: 11).

Sistem pernapasan nyamuk *Aedes aegypti* L. yaitu dengan menggunakan pipa-pipa udara yang disebut trakea, dengan lubang pada dinding tubuh nyamuk yang disebut spirakel. Adanya spirakel yang terbuka lebar tanpa ada mekanisme pengaturnya, pada kelembaban rendah akan menyebabkan penguapan air dari dalam tubuh nyamuk, dan salah satu musuh nyamuk dewasa adalah penguapan. Pada kelembaban kurang dari 60% umur nyamuk akan menjadi pendek, tidak dapat menjadi vektor karena tidak cukup waktu untuk perpindahan virus dari lambung ke kelenjar ludah (Sitio, 2008: 30).

Kelembaban yang sesuai adalah sekitar 70% sampai 89% (Jumar dalam Simanjuntak, 2006: 11).

2.1.9 Pengendalian Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Upaya mengatasi DBD sampai saat ini masih belum mendapatkan adanya cara yang efektif maupun vaksin yang dapat melindungi diri dari infeksi virus *dengue* (Soegijanto, 2004: 106). Oleh karena itu, sampai saat ini pengendalian infeksi virus *dengue* yang paling mudah dan dapat dilakukan adalah dengan mengendalikan vektornya untuk memutus rantai penularan.

2.1.9.1 Pengendalian secara Kimia

Pengendalian secara kimia yaitu dengan menggunakan insektisida. Sasaran insektisida berupa stadium dewasa maupun stadium pra dewasa. Cara ini dilakukan dengan menyemprotkan insektisida ke sarang-sarang nyamuk, seperti got, semak, dan ruangan rumah. Banyak sekali jenis insektisida nyamuk yang saat ini beredar di pasaran. Selain penyemprotan, dapat juga dilakukan penaburan insektisida butiran ke tempat jentik atau larva nyamuk demam berdarah biasa bersarang, seperti tempat penampungan air, genangan air, atau selokan yang airnya jernih. Penggunaan obat nyamuk bakar juga digolongkan ke dalam pengendalian secara kimia karena mengandung bahan beracun, misalnya piretrin (Kardinan, 2004: 6).

2.1.9.2 Pengendalian secara Mekanis

Cara ini dilakukan dengan mengubur kaleng-kaleng atau wadah-wadah sejenis yang dapat menampung air hujan dan membersihkan lingkungan yang potensial dijadikan sebagai sarang nyamuk demam berdarah, misalnya semak belukar dan got. Pengendalian secara mekanis lainnya yang dapat dilakukan adalah pemasangan kelambu dan pemasangan perangkap nyamuk baik menggunakan cahaya, lem, atau raket pemukul (Kardinan, 2004: 6).

2.1.9.3 Pengendalian secara Biologi

Pengendalian secara biologi dilakukan dengan menggunakan agen biologi seperti predator/pemangsa, parasit dan bakteri. Jenis predator yang digunakan yaitu ikan pemakan jentik seperti ikan *guppy*, cupang, tampalo, dan ikan gabus. Agen biologi lain seperti *Bacillus thuringiensis* (Bt) digunakan sebagai pembunuh jentik nyamuk atau larvasida yang tidak mengganggu lingkungan (Sembiring, 2009: 12). Salah satu karakteristik dari *Bacillus thuringiensis* adalah dapat memproduksi kristal protein di dalam sel bersama-sama dengan spora pada waktu sel mengalami sporulasi (Blondine dan Yuniarti, 2001: 21). Kristal protein tersebut bersifat toksik terhadap anggota Diptera baik larva atau dewasa (Gama, *et al.*, 2010: 2).

2.2 Tinjauan Umum tentang Mortalitas

Mortalitas adalah kematian individu-individu di dalam populasi. Mortalitas dapat dinyatakan sebagai individu yang mati di dalam kurun waktu tertentu (kematian per waktu), atau sebagai laju jenis (*specific rate*) dalam arti satuan-satuan dari populasi total atau bagian mana saja daripadanya (Odum, 1993: 213). Menurut PBB dan WHO, kematian adalah hilangnya semua tanda-tanda kehidupan secara permanen yang dapat terjadi setiap saat setelah kelahiran hidup (Kurnia, 2006).

2.3 Tinjauan Umum tentang Insektisida Nabati (Insektisida Botani)

Secara umum, insektisida nabati atau insektisida botani diartikan sebagai suatu insektisida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Insektisida nabati relatif mudah dibuat dengan kemampuan dan pengetahuan terbatas. Oleh karena terbuat dari bahan alami/nabati maka jenis insektisida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan ternak peliharaan karena residunya mudah hilang. Insektisida nabati bersifat “pukul dan lari” (*hit and run*), yaitu apabila diaplikasikan akan membunuh

serangga pada waktu itu dan setelah serangganya terbunuh maka residunya akan cepat menghilang di alam.

Penggunaan insektisida nabati dimaksudkan bukan untuk meninggalkan dan menganggap tabu penggunaan insektisida sintetis, tetapi hanya merupakan suatu cara alternatif dengan tujuan agar pengguna tidak hanya tergantung kepada insektisida sintetis. Tujuan lainnya adalah agar penggunaan insektisida sintetis dapat diminimalkan sehingga kerusakan lingkungan yang diakibatkannya pun diharapkan dapat dikurangi pula (Kardinan, 2004).

2.3.1 Pembuatan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)

Cara pembuatan insektisida nabati dari berbagai jenis tumbuhan tidak dapat dijelaskan secara khusus atau distandarisasi karena memang sifatnya tidak berlaku secara umum. Pembuatan insektisida nabati dapat dilakukan secara sederhana atau secara laboratorium. Cara sederhana (jangka pendek) dapat dilakukan dengan penggunaan ekstrak sesegera mungkin setelah pembuatan ekstrak dilakukan. Cara laboratorium (jangka panjang) biasanya dilakukan oleh tenaga ahli yang sudah terlatih. Hal tersebut menyebabkan produk insektisida nabati menjadi mahal. Hasil kemasannya memungkinkan untuk disimpan relatif lama. Untuk menghasilkan bahan insektisida nabati dapat dilakukan teknik sebagai berikut:

- a. Penggerusan, penumbukan, atau pengepresan untuk menghasilkan produk berupa tepung, abu, atau pasta.
- b. Rendaman untuk produk ekstrak.
- c. Ekstraksi dengan menggunakan bahan kimia pelarut disertai perlakuan khusus oleh tenaga yang terampil dan dengan peralatan yang khusus.

2.3.2 Keunggulan dan Kelemahan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)

Penggunaan insektisida nabati memiliki keunggulan dan kelemahan yaitu sebagai berikut (Naria, 2005: 29).

2.3.2.1 Keunggulan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)

- a) Insektisida nabati tidak atau hanya sedikit meninggalkan residu pada komponen lingkungan dan bahan makanan, sehingga dianggap lebih aman daripada insektisida sintetis/kimia.
- b) Zat pestisidik dalam insektisida nabati lebih cepat terurai di alam sehingga tidak menimbulkan resistensi pada serangga sasaran.
- c) Pembuatannya dapat dilakukan sendiri dengan cara yang sederhana.
- d) Bahan pembuat insektisida nabati dapat disediakan di sekitar rumah.
- e) Secara ekonomi tentunya akan mengurangi biaya pembelian insektisida.

2.3.2.2 Kelemahan Insektisida Nabati (Insektisida Botani)

Selain keunggulan insektisida nabati, tentunya terdapat pula beberapa kelemahan pemakaian insektisida nabati tersebut. Kelemahannya antara lain :

- a) Frekuensi penggunaan insektisida nabati lebih tinggi dibandingkan dengan insektisida sintetis. Tingginya frekuensi penggunaan insektisida nabati adalah karena sifatnya yang mudah terurai di lingkungan sehingga harus lebih sering diaplikasikan.
- b) Insektisida nabati memiliki bahan aktif yang kompleks (*multiple active ingredient*) dan kadang kala tidak semua bahan aktif dapat dideteksi.
- c) Tanaman insektisida nabati yang sama, tetapi tumbuh di tempat yang berbeda, iklim berbeda, jenis tanah berbeda, umur tanaman berbeda, dan waktu panen yang berbeda mengakibatkan bahan aktifnya menjadi sangat bervariasi (Naria, 2005: 29-30).

2.3.3 Penggolongan Insektisida Nabati (Insektisida Botani) menurut Cara Masuk dan Cara Kerja pada Serangga Sasaran

Berdasarkan cara masuk insektisida ke dalam tubuh serangga (*mode of entry*), insektisida dapat dibagi menjadi tiga kelompok sebagai berikut:

a. Racun Lambung (*Racun Perut/Stomach Poisons*)

Racun lambung atau racun perut adalah insektisida yang membunuh serangga sasaran dengan cara masuk melalui mulut ke organ pencernaan melalui makanan yang dimakan serangga, kemudian diserap oleh dinding usus dan ditranslokasikan ke tempat sasaran yang mematickan sesuai dengan jenis bahan aktif insektisida, misalnya menuju ke pusat saraf serangga, menuju ke organ-organ respirasi, meracuni sel-sel lambung dan sebagainya, oleh karena itu serangga harus memakan tanaman yang sudah disemprot insektisida yang mengandung residu dalam jumlah yang cukup untuk membunuh.

b. Racun Kontak (*Contact Poisons*)

Racun kontak adalah insektisida yang masuk dalam tubuh serangga melalui kulit (kutikula dan ditransportasikan ke bagian tubuh serangga tempat insektisida aktif bekerja (misalnya, susunan saraf). Serangga akan mati apabila bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tersebut (Djojsumarto, 2008: 205)

c. Racun Inhalasi (*Fumigants*)

Racun inhalasi berbeda dengan racun pernapasan. Racun inhalasi merupakan insektisida yang bekerja lewat sistem pernapasan. Serangga akan mati jika insektisida dalam jumlah yang cukup masuk ke dalam sistem pernapasan serangga dan selanjutnya ditransportasikan ke tempat racun tersebut bekerja. Sementara racun pernapasan adalah insektisida yang mematickan serangga karena mengganggu kerja organ pernapasan sehingga serangga mati akibat tidak dapat bernapas (Djojsumarto, 2008: 206).

Jika dilihat berdasarkan cara kerjanya (*mode of action*), insektisida dibedakan menjadi 5 kelompok sebagai berikut:

a. Racun Saraf

Racun ini merupakan insektisida yang paling umum. Gejala umum serangga yang terpapar racun ini umumnya mengalami kekejangan dan kelumpuhan sebelum mati.

b. Racun Pencernaan

Racun pencernaan adalah racun yang merusak saluran pencernaan serangga, sehingga mati karena sistem pencernaannya tidak bekerja atau hancur.

c. Racun Penghambat Metamorfosis Serangga

Racun ini umumnya menghambat pembentukan kitin yang dihasilkan serangga sebagai bahan untuk menyusun kulitnya sehingga serangga tidak mampu untuk menghasilkan kulit baru dan akan mati dalam beberapa hari karena terganggunya proses pergantian kulit.

d. Racun Metabolisme

Racun ini membunuh serangga dengan mengintervensi proses metabolismenya. Contoh insektisida dengan *mode of action* ini yaitu *deafentiuron* yang mengganggu respirasi sel dan bekerja di mitokondria.

e. Racun Fisik (Racun Non Spesifik)

Racun fisik membunuh serangga sasaran dengan cara yang tidak spesifik sebagai contohnya debu inert yang dapat menutupi lubang-lubang pernapasan serangga sehingga serangga mati lemas karena kekurangan oksigen (Djojsumarto, 2008: 208).

2.4 Tinjauan Umum tentang Toksisitas

Toksisitas didefinisikan sebagai satu kemampuan yang melekat pada satu zat kimia untuk membuat pengaruh yang merugikan pada organisme-organisme hidup. Reaksi-reaksi sensitisasi sering berat dan beberapa dari padanya bersifat fatal (Mansyur, 2004: 1). Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan bahan kimia untuk menyebabkan kerusakan/injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif, terjadi atau tidak terjadinya kerusakan tergantung pada jumlah unsur kimia yang terabsorpsi, sedangkan istilah bahaya (*hazard*) adalah kemungkinan kejadian kerusakan pada suatu situasi atau tempat tertentu; kondisi penggunaan dan kondisi paparan menjadi pertimbangan utama.

Untuk menentukan bahaya, perlu diketahui dengan baik sifat bawaan toksisitas unsur dan besar paparan yang diterima individu (Ian, 2009).

2.4.1 Toksisitas Insektisida

Dalam mengukur toksisitas insektisida dikenal istilah LD 50, LC 50, ED 50, RL 50, EC 50 dan TLM dengan penjelasan sebagai berikut (Tabel 2.1):

Tabel 2.1 Daftar Istilah Toksisitas

Istilah	Keterangan
LD 50 (<i>Lethal Dossage</i>)	Berapa mg insektisida untuk tiap kg berat badan binatang percobaan untuk mematikan 50% dari populasinya. Diberikan melalui oral, dermal dan respirasi, diambil dari insektisida murni.
LC 50 (<i>Lethal Concentration</i>)	Berapa mg insektisida untuk tiap kg berat badan binatang percobaan untuk mematikan 50% dari populasinya menggunakan <i>fumigant</i> . Diberikan melalui oral, dermal dan respirasi. Contoh: formalin dengan ikan lele, herbisida dengan udang sungai pada waktu tertentu
ED 50 (<i>Effective Dossage</i>)	Berapa mg insektisida untuk tiap volume spora yang tidak tumbuh setelah diberi perlakuan fungisida dengan dosis tertentu pada medium buatan pada waktu tertentu.
RL 50 (<i>Residu Life</i>)	Memperhatikan periode sejak terjadinya deposit insektisida sampai separuh deposit tersisa sebagai residu atau waktu yang diperlukan sehingga suatu insektisida aktivitasnya berkurang 50%.
EC 50 (<i>Effective Concentration</i>)	Kepekatan bahan uji pada taraf 50% populasi hewan uji dalam keadaan tidak aktif atau lumpuh. pada waktu tertentu. Misalnya fitoplankton pada air kolam dengan 1 ppm <i>paraquat</i> (herbisida) selama 4 jam pertumbuhannya menurun 4%.
TLM (<i>Tolerance Limited Medium</i>)	Toksisitas insektisida yang diukur pada pengairan (kolam). Contohnya <i>Penta Chlorophenol</i> (PCP) dalam waktu 24 - 48 jam terhadap ikan <i>Lebistes</i> adalah 0,4 dan 0,25 ppm.

Sumber: Kartosapoetra dalam Siregar, 2008

2.5 Tinjauan Umum tentang Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Persea berasal dari bahasa Yunani, artinya suatu pohon yang manis buahnya. Dalam perkembangan selanjutnya, nama alpukat amat beragam di berbagai negara atau daerah, antara lain *advocaat* (Belanda), *avocet* (Prancis), *ahuaca-te* atau *aguacate* (Spanyol), dan *avocado* (Inggris). Di Indonesia nama alpukat mempunyai beberapa nama daerah, seperti *alpuket* atau *alpukat* (Jawa Barat), *alpokat* (Jawa Tengah dan Jawa Timur), dan *apukat* atau *jambu wolanda* (sebutan di lain-lain daerah) (Rukmana, 1997: 17).

2.5.1 Klasifikasi Alpukat (*Persea americana* Mill.)

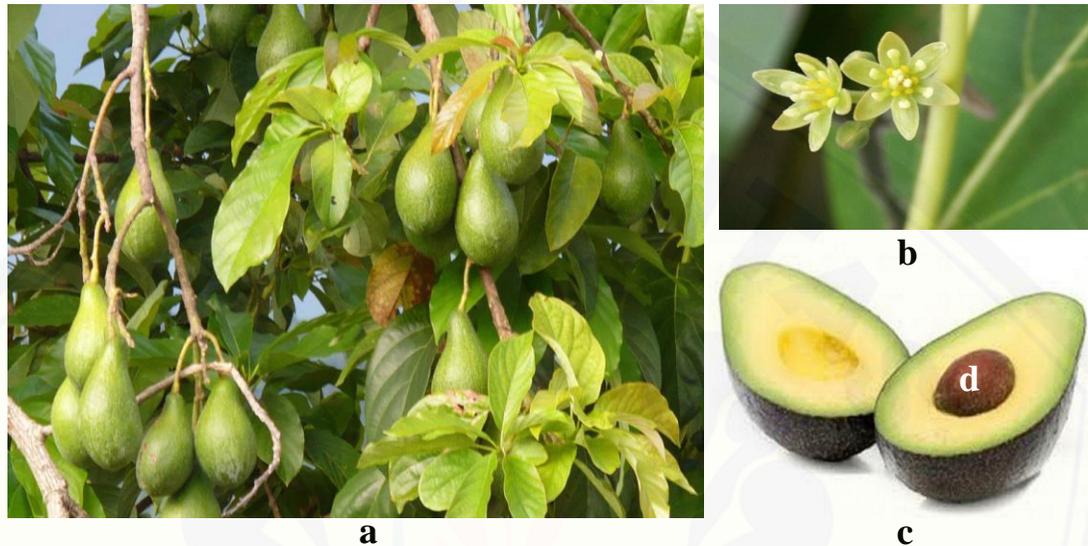
Kedudukan tanaman alpukat dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (USDA, 1999).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.

2.5.2 Morfologi Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Persea americana merupakan tanaman yang tumbuh periodik dan laju pertumbuhannya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Pohon alpukat tumbuh pada ketinggian 2400 m di atas permukaan air laut dengan temperatur antara 16 hingga 24 °C dan curah hujan 80 hingga 1700 mm tiap tahunnya. Di area yang memiliki

kelembaban konstan, *Persea americana* tumbuh setiap tahun. Di wilayah yang lebih kering atau dingin, selama beberapa periode dapat kehilangan banyak daunnya (Ospina, 2010: 605).



Gambar 2.8 a. Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.); b. Bunga Alpukat; c. Buah Alpukat; d. Biji Alpukat, dengan Perbesaran 0,6x
Sumber: Alfredo, 2009 dan Hanuraga, 2013

Ranting tanaman alpukat berbentuk silindris (Ospina, 2010: 605), memiliki percabangan yang banyak, daun tunggal, bertangkai yang panjangnya 1,5 – 5 cm (Soenanto, 2009: 63). Ketinggian tanaman alpukat antara 9 – 20 m (Orwa, *et al.*, 2009: 1). Panjang daunnya berkisar antara 7 – 41 cm dan memiliki bentuk yang bervariasi (elips, oval, lanset). Daunnya seringkali berwarna kemerah-merahan ketika masih muda, dan berubah menjadi halus, keras, dan hijau gelap ketika telah berkembang sempurna. Bunganya berwarna hijau kekuningan dan memiliki diameter antara 1 – 1,3 cm (Orwa, *et al.*, 2009: 1).

Bunga tersusun dalam tandan yang tumbuh dari ujung-ujung ranting. Struktur bunga berkelamin dua (hermafrodit) dan persariannya dibantu oleh lebah madu karena bunganya mempunyai nektar dan stamina yang berfungsi sebagai alat pemikat serangga. Sifat penting pembungaan alpukat adalah mekarnya bunga terjadi dua kali

dalam dua hari-hari berturut-turut. Setiap bunga dapat berfungsi sebagai bunga “betina” pada hari pertama bunga itu membuka (mekar), dan berfungsi sebagai bunga “jantan” pada hari kedua bunga tersebut mekar (Rukmana, 1997: 18; Tate, 2002: 81).

Persea americana menghasilkan ribuan bunga pada tiap tanaman. Jumlah bunga pada tanaman alpukat yang telah berumur 15 tahun dapat mencapai lebih dari 100.000 kuntum (Rukmana, 1997: 19), tetapi bagaimanapun juga jumlah bunga yang menghasilkan buah hanya 5 persen atau lebih (Ospina, 2010: 605).

Perilaku pembungaan alpukat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, terutama keadaan suhu udara. Pembungaan alpukat yang paling optimum adalah pada suhu udara rata-rata harian di atas 20 °C. Pada suhu rendah antara 9–14 °C (dataran tinggi) bunga-bunga alpukat menjurus mekar hanya satu kali (*single cyclus*) dengan putik dan tepung sari masak bersamaan (Rukmana, 1997: 20). Hal ini berarti tanaman alpukat ini dapat berbuah di dataran rendah, tapi akan lebih produktif/memuaskan bila ditanam pada ketinggian 200 sampai dengan 1000 m di atas permukaan laut (dpl), pada daerah tropik dan subtropik yang banyak curah hujannya (Padmiarso, 2008: 18).

Buahnya terdiri dari sebuah biji tunggal berukuran besar yang dikelilingi daging buah yang lunak. Buahya mengandung 3–30% minyak. Kulit buah alpukat bervariasi dalam hal ketebalan dan teksturnya. Warna buah yang telah matang adalah hijau, hitam, ungu, atau kemerah-merahan, tergantung dari varietasnya. Bentuk buahnya mulai dari bulat hingga piriformis, dan beratnya mencapai 2,3 kg (Orwa, *et al.*, 2009: 1). Karakteristik buahnya sangat dapat berubah-ubah, tergantung dari varietasnya. Bentuk seperti buah per adalah bentuk yang paling menonjol, tetapi ada pula buah alpukat yang berbentuk bulat maupun lonjong. Bentuk buahnya biasanya asimetris, dan bagian yang lebih banyak mengandung serat atau pembuluh angkut akan lebih tebal. Perikarp tersusun dari korteks yang ketebalan dan warnanya bervariasi dari hijau kekuning-kuningan hingga ungu atau hampir hitam; permukaannya bervariasi dari yang halus dan mengkilap hingga berombak-ombak

dan buram. Kulit buahnya memiliki ketebalan 1 – 1,5 mm (Rukmana, 1997: 20). Mesokarpnya seperti bubur yang lunak sekali (*pulpy*), bermassa lembut, warnanya putih hijau kekuning-kuningan, dengan pigmen hijau dekat korteks (Ospina, 2010: 605).

Biji buah berbentuk bulat seperti bola, diameter 2,5 – 5 cm, keping biji putih kemerahan (Padmiarso, 2008: 18). Bijinya menempati bagian terbesar dari buah; terdiri dari dua kotiledon yang lembut dan sebuah embrio yang kecil; tidak mengandung endosperm (Ospina, 2010: 605). Biji dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan generatif (Rukmana, 1997: 20). Kulit bijinya tersusun dari satu hingga lima lapisan eksterior sklerenkim dan beberapa lapis parenkim. Lapisan terluar parenkim, yang dekat dengan sklerenkim, diisi dengan tanin yang memberikan karakteristik warna gelap (Ospina, 2010: 605). Kulit biji tipis melekat pada bijinya.

Tanaman alpukat mempunyai perakaran tunggang yang dalam dan menyebar ke semua arah, tetapi peka terhadap air tanah yang mudah menggenang (becek) (Rukmana, 1997: 21). Tanaman alpukat dapat tumbuh baik di tanah yang memiliki pengairan bagus, sedikit asam, dan kaya akan materi organik (Ospina, 2010: 605).

2.5.3 Manfaat Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Tanaman alpukat merupakan aristokrat dari seluruh buah-buahan tropikal yang ada. Buah ini kaya akan zat besi, potasium, vitamin A, vitamin B, dan mempunyai kandungan protein tertinggi dari seluruh buah yang ada di dunia. Minyak dari buah alpukat diketahui sangat bermanfaat bagi kulit. Minyak ini banyak digunakan dalam industri kosmetik yang memproduksi sabun, krim wajah, dan pelembab (Tate, 2002: 80).

Alpukat kaya akan mineral (besi dan tembaga) yang dapat membantu dalam proses regenerasi darah merah dan mencegah anemia (Mahendra, 2011: 64). Buah alpukat kaya akan serat dan asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated* =

MUFA) dapat menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol LDL darah yang tinggi (Dalimartha, 2006: 21).

Efek farmakologis dari daun alpukat adalah peluruh kencing (diuretik), dan astringen. Selain itu, daun dan kulit ranting memiliki efek farmakologis seperti peluruh kentut (karminatif), penyembuh batuk, pelancar menstruasi, *emollient*, dan antibakteri (Hariana, 2006: 10). Daun alpukat yang mengandung rasa pahit dan kelat dapat memberikan sifat antibakteri. Lemak tak jenuh pada alpukat juga mengandung zat antibakteri dan anti jamur. Sifat tersebut dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis spesies bakteri *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia* sp., dan *Bacillus* sp. (Permadi, 2006: 17). Daun muda (pucuk) alpukat sering digunakan sebagai bahan ramuan obat sakit ginjal (Rukmana, 1997: 16). Infusa daun alpukat juga telah diteliti memiliki sifat antihelminik (Pratama, 2010: 43).

Biji alpukat dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Herminia de Guzman Ladion, seorang pakar kesehatan Filipina mengajarkan penggunaan biji alpukat untuk mengobati sakit gigi dengan menjadikannya irisan-irisan kecil dan diselipkan di gigi yang berlubang. Daun muda (pucuk) alpukat sering digunakan sebagai bahan ramuan obat sakit ginjal (Rukmana, 1997: 16). Penelitian oleh Carpena *et al.* (2011: 5632) menunjukkan bahwa ekstrak biji alpukat mampu menghambat bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Lysteria monocytogenes* secara *in vitro*.

Orang Meksiko memanfaatkan biji alpukat (mentah ataupun dipanggang) sebagai obat tradisional untuk mengobati ruam kulit, diare, disentri yang disebabkan cacing dan amoeba, infeksi karena jamur dan bakteri, asma, tekanan darah tinggi, dan reumatik (Jiménez, *et al.*, 2013: 1). Biji alpukat saja ataupun dicampur dengan buah lain seperti *Psidium guajava*, *Mentha piperita* atau *Ocimum basilicum* dapat digunakan untuk mengatasi masalah diare (Jimenez, *et al.*, 2013: 1). Ekstrak metanol dan heksana biji alpukat telah diketahui memiliki efek antimikrobal terhadap *Candida* sp., *Cryptococcus neoformans*, dan *Malassezia pachydermatis* dengan KHM

< 1,25 µg/ml. Aktivitas tripanomisidal dari ekstrak metanol biji alpukat juga pernah dilakukan (Abe, *et al.*, 2005) dengan konsentrasi untuk menghambat sebesar 250-500 µg/ml. Ekstrak biji alpukat juga bersifat anti-*Giardia duodenalis*, dimana mampu menyebabkan 23% kematian *Giardia duodenalis* dengan konsentrasi 4 mg/ml (Ponce, *et al.*, 1994: 343). Ekstrak EtOH dan CHCl₃ biji alpukat menunjukkan aktivitas antiprotozoal yang signifikan terhadap *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* dan *Trypanosoma vaginalis* (Jiménez, *et al.*, 2013: 4).

2.5.4 Komposisi Kimia Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Hasil skrining fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak etanol biji buah alpukat oleh Zuhrotun (2007: 12) memberikan hasil bahwa biji alpukat mengandung senyawa metabolit sekunder berupa polifenol, tanin, flavonoid, triterpenoid, kuinon, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid, sedangkan saponin hanya terdeteksi dalam ekstrak. Kemudian, penelitian oleh Marlinda, dkk. (2012: 27) menunjukkan bahwa berdasarkan hasil skrining fitokimia, senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji buah alpukat adalah alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin, dimana kadar saponin dan triterpenoid memiliki insensitas yang sangat kuat dibandingkan dengan senyawa metabolit sekunder yang lain.

Penelitian terbaru oleh Arukwe, *et al.* (2012: 347) memberikan hasil bahwa daun, buah, dan biji alpukat memiliki kandungan saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, fenol, dan steroid. Kandungan glikosida sianogenik hanya ditemukan pada biji alpukat (Tabel 2.2, halaman 31).

Pada penelitian yang dilakukan Arukwe, *et al.* (2012: 347), dapat diketahui bahwa kandungan tanin dan flavonoid tertinggi terdapat pada daun alpukat; kandungan steroid tertinggi terdapat pada buah alpukat; sedangkan kandungan alkaloid, fenol dan saponin tertinggi terdapat pada biji alpukat, dimana secara keseluruhan saponin adalah senyawa yang paling banyak terkandung dalam biji alpukat.

Tabel 2.2 Kandungan Kimia dari Daun, Buah, dan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Kandungan	Daun	Buah	Biji
Saponin	1,29 ± 0,08	0,14 ± 0,01	19,21 ± 2,81
Tanin	0,68 ± 0,06	0,12 ± 0,03	0,24 ± 0,12
Flavonoid	8,11 ± 0,14	4,25 ± 0,16	1,90 ± 0,07
Glikosida sianogenik	Tidak terdeterminasi	Tidak terdeterminasi	0,06 ± 0,02
Alkaloid	0,51 ± 0,21	0,14 ± 0,00	0,72 ± 0,12
Fenol	3,41 ± 0,64	2,94 ± 0,13	6,14 ± 1,28
Steroid	1,21 ± 0,14	1,88 ± 0,19	0,09 ± 0,00

Sumber: Arukwe, *et al.*, 2012: 347

2.6 Tinjauan Umum tentang Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Harborne, 1987: 151). Saponin dibedakan berdasarkan hasil hidrolisisnya menjadi karbohidrat dan sapogenin. Sapogenin sendiri terdiri dari dua golongan yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin mempunyai efek menurunkan konsumsi ransum karena rasa pahit dan mampu menurunkan laju pertumbuhan hewan nonruminansia (Cornell University, 2014). Menurut data dari 23.000 komponen tumbuhan, yang paling banyak adalah golongan saponin jenis terpenoid (Cowan, 1999). Triterpenoid dapat mempertahankan serangga dalam stadium imatur yang berlangsung lebih lama, karena sebagai analog hormon juvenil.

Uji saponin pada berbagai jenis tanaman dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk kualitatif dan spektrofotometer untuk analisa kuantitatif dengan menggunakan saponin putih sebagai standar (Rosida, 2002: 71).

2.6.1 Mekanisme Kerja Saponin dalam Mengakibatkan Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L.

Aktivitas dari saponin menurut Cheeke (1971: 624) adalah menghambat enzim dalam saluran pencernaan sehingga menurunkan kemampuan dalam mencerna nutrisi tertentu (mengganggu penyerapan makanan). Saponin merupakan racun yang dapat mengakibatkan hemolisis pada sel darah merah (eritrosit). Hal tersebut dapat terjadi karena adanya reaksi antara saponin dengan kolesterol di dinding eritrosit, yang menyebabkan permeabilitas membran sel darah merah berubah, sehingga memungkinkan terjadinya hemolisis (Cheeke, 1971: 622). Lebih lanjut menurut Sahsi dan Ashoke dalam Aminah, dkk. (2001) saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa saluran pencernaan larva sehingga dinding saluran pencernaan menjadi korosif dan akhirnya rusak. Chapagain dan Wiesman (2005: 1353) berpendapat bahwa kehadiran saponin dapat menyebabkan kerusakan kutikula, karena adanya interaksi antara molekul saponin dengan membran kutikula tersebut. Hartono (2009) juga berpendapat bahwa mekanisme saponin adalah dengan merusak kulit (kutikula) larva nyamuk, sehingga menyebabkan larva trauma.

2.7 Tinjauan Umum tentang Granula

Granula adalah gumpalan-gumpalan dari partikel-partikel yang lebih kecil, umumnya berbentuk tidak merata dan menjadi partikel tunggal yang lebih besar. Ukuran biasanya berkisar antara ayakan 4-12, walaupun demikian granula dari bermacam-macam ukuran lubang ayakan mungkin dapat dibuat tergantung pada tujuan pemakaian (Ansel, 1989: 212).

Ada dua cara atau metode dalam pembuatan granula yang dikenal dalam farmakologi, yaitu granula basah dan granula kering, namun yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode pembuatan granula kering.

Pada metode granulasi kering, granul tidak dibentuk oleh pelembapan atau penambahan bahan pengikat ke dalam campuran serbuk obat, tetapi dengan cara

memadatkan massa yang jumlahnya besar dari campuran serbuk, dan setelah itu menjadikan pecahan-pecahan ke dalam granul yang lebih kecil. Melalui metode ini, baik bahan aktif maupun pengisi harus memiliki sifat kohesif supaya massa yang jumlahnya besar dapat dibentuk. Metode ini khususnya untuk bahan-bahan yang tidak dapat diolah dengan metode granulasi basah, karena kepekaannya terhadap uap air untuk pengeringannya diperlukan temperatur yang dinaikkan (Ansel, 1989: 217).

2.8 Tinjauan Umum tentang Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu komponen dari suatu campuran berdasarkan proses distribusi terhadap dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Ekstraksi dapat dilakukan secara kontinyu atau bertahap. Ekstraksi bertahap cukup dilakukan dengan corong pisah. Campuran dua pelarut dimasukkan dengan corong pemisah, lapisan dengan berat jenis yang lebih ringan berada pada lapisan atas.

Dengan jalan pengocokan proses ekstraksi berlangsung, mengingat bahwa proses ekstraksi merupakan proses kesetimbangan maka pemisahan salah satu lapisan pelarut dapat dilakukan setelah kedua jenis pelarut dalam keadaan diam. Lapisan yang ada di bagian bawah dikeluarkan dari corong dengan jalan membuka keran corong dan dijaga agar jangan sampai lapisan atas ikut mengalir keluar (Zain, 2012).

2.8.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Hamdani, 2012).

2.8.2 Metode Ekstraksi

Ada dua metode dalam melakukan ekstraksi yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

2.8.2.1 Ekstraksi Cara Dingin

Metode ini artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa karena pemanasan.

Jenis ekstraksi dingin adalah :

- i. Maserasi, merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut diam atau dengan beberapa kali pengocokan pada suhu ruangan. Pada dasarnya metode ini dengan cara merendam sampel dengan sekali-sekali dilakukan pengocokan. Umumnya perendaman dilakukan 24 jam dan selanjutnya pelarut diganti dengan pelarut baru.
- ii. Perkolasi, merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan, maserasi antara, perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya satu sampai lima kali volume bahan. Prosedurnya sebagai berikut, sampel direndam dengan pelarut, selanjutnya pelarut (baru) dilalukan (ditetes-teteskan) secara terus menerus sampai warna pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang artinya sudah tidak ada lagi senyawa yang terlarut (Hamdani, 2012).

2.8.2.2 Ekstraksi Cara Panas

Metode ini melibatkan panas dalam prosesnya. Adanya unsur panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin. Metodenya adalah:

- i. Refluks, merupakan ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi sempurna. Prosedurnya yaitu memasukkan sampel dalam wadah, memasang

kondensor, dan memanaskannya. Pelarut akan mengekstraksi dengan panas, selanjutnya akan menguap sebagai senyawa murni dan kemudian terdinginkan dalam kondensor, turun lagi ke wadah, mengekstraksi lagi dan seperti itu seterusnya. Proses umumnya dilakukan selama satu jam.

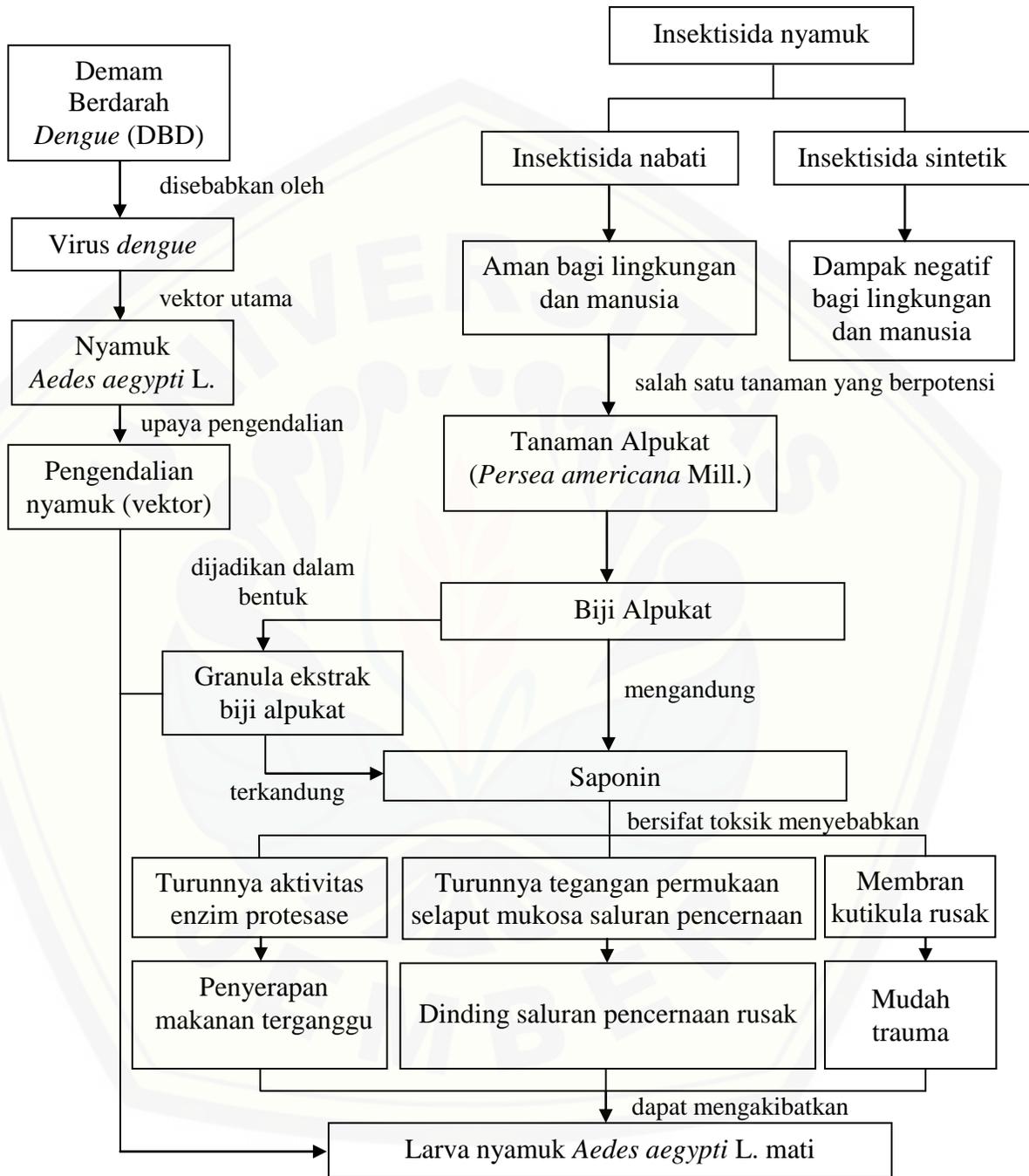
- ii. Ekstraksi dengan alat *soxhlet*, merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Di sini sampel disimpan dalam alat *soxhlet* dan tidak dicampur langsung dengan pelarut dalam wadah yang dipanaskan, yang dipanaskan hanyalah pelarutnya, pelarut terdinginkan dalam kondensor dan pelarut dingin inilah yang selanjutnya mengekstraksi sampel.
- iii. Digesti, merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) yang dilakukan pada suhu lebih tinggi dari suhu ruangan, secara umum dilakukan pada suhu 40–50 °C.
- iv. Infusa, merupakan proses ekstraksi dengan merebus sampel (khususnya simplisia) pada suhu 90 °C (Hamdani, 2012).

2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini sebagai berikut.

- a. Granula ekstrak biji alpukat memiliki efek toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L.
- b. Besarnya toksisitas (LC_{50}) pada waktu dedah 24 jam granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sekitar 50 ppm, sedangkan besarnya LT_{50} granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada tiap konsentrasi adalah sekitar 24 jam.

2.10 Kerangka Teori



Gambar 2.9 Kerangka Teori

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Berdasarkan tujuannya, penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental. Sugiyono (2011: 72) menyatakan bahwa penelitian eksperimental dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Proses maserasi ekstrak biji alpukat dan identifikasi kandungan senyawa toksik biji alpukat dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, sedangkan pembuatan granula ekstrak biji alpukat, penetasan telur dan pemeliharaan larva *Aedes aegypti* L., serta uji toksisitas granula ekstrak biji alpukat dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan selama lima bulan, mulai dari bulan Maret 2014 sampai dengan Juli 2014.

3.3 Objek Penelitian

Objek penelitian adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir hingga instar IV awal.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang terkait dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel atau kondisi yang dimanipulasi oleh peneliti untuk menerangkan hubungannya dengan fenomena yang diobservasi. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) .

3.4.2 Variabel Terikat

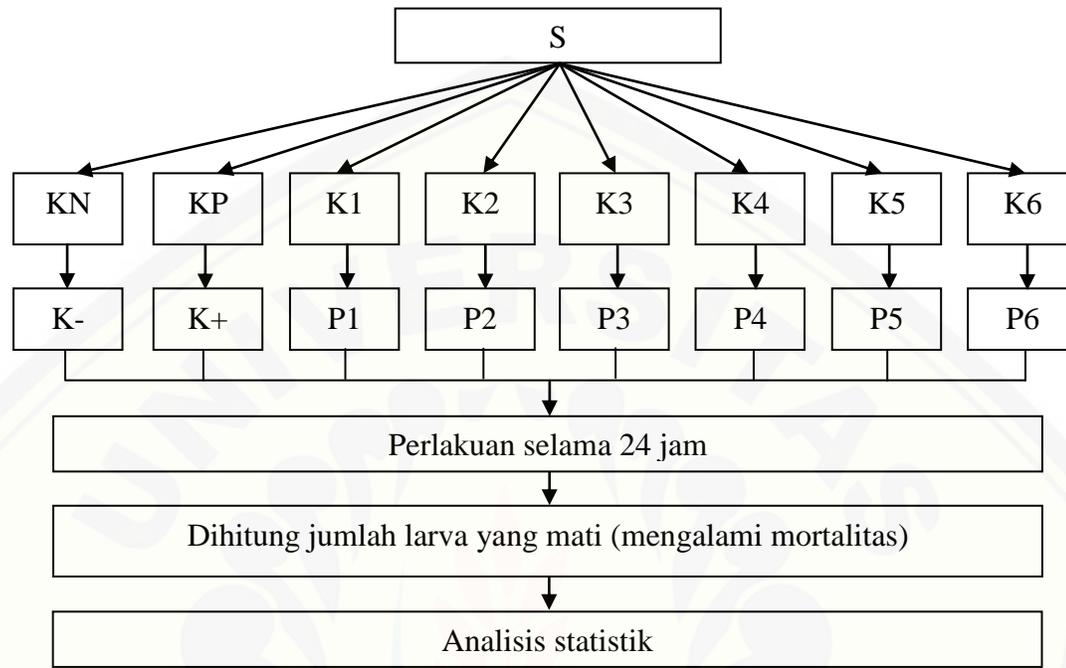
Variabel terikat merupakan variabel atau kondisi yang mengalami perubahan ketika peneliti mengganti variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. setelah kontak dengan berbagai serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) pada berbagai serial waktu.

3.4.3 Variabel Kendali

Variabel kendali adalah variabel yang diduga berpengaruh terhadap variabel terikat, tetapi dalam penelitian ini diupayakan agar mempunyai pengaruh sama terhadap variabel terikat. Variabel kendali dalam penelitian ini antara lain:

- a) Umur/stadium larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang digunakan sebagai penelitian yaitu larva pada stadium instar III akhir sampai instar IV awal.
- b) Keadaan larva yang digunakan dalam uji ini harus dalam kondisi tidak cacat secara fisik dan aktif bergerak.
- c) Media hidup, dikendalikan dengan menggunakan air akuades. Gelas plastik yang digunakan sebagai tempat hidup terbuat dari bahan dan ukuran yang sama.
- d) Kepadatan larva, dikendalikan dengan menyamakan jumlah larva dalam satuan volume air tiap kelompok uji, yaitu sebanyak 20 larva tiap perlakuan.
- e) Lama pemaparan selama 24 jam.
- f) Keberadaan makanan larva, dikendalikan dengan tidak memberikan bahan makanan pada semua kelompok uji.

3.5 Rancangan Penelitian



Keterangan:

- S : Sampel
- KN : Kelompok kontrol negatif
- KP : Kelompok kontrol positif
- K1 : Kelompok perlakuan 1
- K2 : Kelompok perlakuan 2
- K3 : Kelompok perlakuan 3
- K4 : Kelompok perlakuan 4
- K5 : Kelompok perlakuan 5
- K6 : Kelompok perlakuan 6
- K- : Kontrol negatif dengan air akuades (0 ppm)
- K+ : Kontrol positif dengan konsentrasi abate 50 ppm
- P1 : Perlakuan 1 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 50 ppm
- P2 : Perlakuan 2 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 60 ppm
- P3 : Perlakuan 3 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 70 ppm
- P4 : Perlakuan 4 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 80 ppm
- P5 : Perlakuan 5 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 90 ppm
- P6 : Perlakuan 6 dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 100 ppm

Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

3.6 Definisi Operasional

- a. Toksik berarti beracun atau mengandung racun (toksin). Dalam penelitian ini, bahan (toksik) yang diharapkan memiliki efek toksik adalah granula ekstrak biji alpukat, dengan kandungan saponin yang terkandung di dalamnya.
- b. Toksisitas berasal dari kata toksin yaitu racun yang dibentuk dan dikeluarkan oleh organisme yang menyebabkan kerusakan radikal di struktur atau faal, atau merusak total hidup atau keefektifan organisme pada satu bagian (Tim Penyusun Kamus Pusat Pembinaan dan Pengembangan Bahasa, 1991: 1065). Toksisitas adalah kapasitas dari suatu toksikon yang dapat memberi efek buruk bagi lingkungan. Pada penelitian ini toksisitas adalah efek racun yang ditimbulkan oleh senyawa yang terdapat dalam granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang dapat menyebabkan kematian atau kerusakan pada struktur tubuh nyamuk *Aedes aegypti* L.
- c. Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah supernatan yang dibuat dari biji alpukat dalam beberapa serial konsentrasi. Ekstraksi adalah suatu metode umum yang digunakan untuk mengambil produk dari bahan alami seperti jaringan tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang digunakan untuk menarik komponen non polar dengan membutuhkan pelarut polar yaitu etanol 96%.
- d. Granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah gumpalan-gumpalan dari partikel-partikel yang lebih kecil, umumnya berbentuk tidak merata dan menjadi partikel tunggal yang lebih besar yang terbuat dari ekstrak pekat biji alpukat (*Persea americana* Mill.).
- e. Mortalitas adalah kematian individu-individu selama kurun waktu tertentu dalam suatu populasi yang dihitung dengan persentase (Odum, 1993: 213). Mortalitas pada penelitian ini adalah jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. (larva instar III akhir sampai IV awal) yang mati dengan waktu dedah 24 jam.
- f. Kematian larva *Aedes aegypti* L. ditunjukkan dengan tidak adanya gerakan/reaksi saat disentuh dengan lidi, tenggelam di dasar gelas percobaan, serta warna larva

menjadi hitam di bagian abdomen dan tidak mengalami perubahan warna ketika ditetesi eosin (Suhada dalam Kurniawati, 2003: 16).

- g. LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) adalah konsentrasi toksin yang diperlukan agar populasi larva uji mengalami kematian sebesar 50%. Toksin dalam penelitian ini adalah konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.), sedangkan larva uji yang dimaksud adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir hingga instar IV awal.
- h. LT_{50} (*Lethal Time*) adalah lama pengujian yang diperlukan agar populasi larva uji mengalami kematian sebesar 50% pada dosis atau konsentrasi tertentu.

3.7 Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

3.7.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* L. yang diperoleh dari *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga Surabaya yang dibiakkan di Laboratorium Pendidikan Biologi Universitas Jember.

3.7.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir hingga instar IV awal dengan kondisi sehat dan gerakannya aktif, sejumlah 20 ekor tiap perlakuan. Pengujian dilakukan pada larva instar III akhir hingga instar IV awal karena pada tahap ini larva nyamuk dianggap paling mewakili sensitifitasnya dari populasi nyamuk (Mardihusodo dalam Wahyuni, 1988: 33).

3.8 Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini memerlukan beberapa alat dan bahan sebagai berikut.

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alat-alat yang diperlukan dalam pembuatan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) berupa *blender*, pisau, ayakan, nampan, sendok, stoples, neraca

analitik, corong, *rotary evaporator*, *beaker glass* 2000 ml, gelas, dan *stirrer* (pengaduk).

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) meliputi biji alpukat varian merah panjang yang sudah matang (berat buah antara 300 – 500 g, diameter 7 – 10 cm, panjang 12 – 18 cm, dan kulit buah berwarna merah kehitaman), kertas saring, etanol 96%, *aluminium foil*, karet gelang, dan air.

3.8.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alat-alat yang diperlukan dalam proses isolasi saponin dari ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) berupa penangas air, *beaker glass* 500 ml, botol fial, penjepit, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet, gelas ukur 10 ml, corong, kertas label, penyemprot, dan *chamber*.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam proses isolasi saponin dari ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) meliputi 0,2 gram ekstrak pekat biji alpukat (*Persea americana* Mill.), 2 ml HCl 2N, air, ammonia, 1 ml n-heksana, kertas lakmus, pelat KLT, etil asetat, kapas, dan aniseldehida asam sulfat.

3.8.3 Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah cawan petri, spatula, neraca analitik, dan oven, sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak pekat biji alpukat (*Persea americana* Mill.) 1 gram dan maltodekstrin 5 gram sebagai pengisi.

3.8.4 Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva *Aedes aegypti* L.

Alat-alat yang digunakan untuk penetasan telur meliputi bak plastik, mortar dan mortir, kawat penutup, lampu bohlam, kabel, termometer, higrometer, dan pipet tetes.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penetasan telur adalah air dan telur larva nyamuk *Aedes aegypti* L. meliputi pellet ikan, telur nyamuk *Aedes aegypti* L. yang diperoleh dari laboratorium *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga Surabaya dengan kriteria berbentuk elips, berwarna hitam, ukurannya berkisar antara 0,5 – 0,8 mm, dan tidak memiliki alat pelampung.

3.8.5 Uji Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alat-alat yang digunakan untuk uji toksisitas granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah gelas plastik, pipet, neraca analitik, *beaker glass* 500 ml, kaca benda, kaca penutup, spatula, lidi, kamera, termometer, higrometer, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, dan mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji toksisitas granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) meliputi eosin, kain kasa, karet gelang, akuades, granula ekstrak biji alpukat, dan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir-IV awal dari hasil pembiakan telur dengan kriteria sehat (gerakan lincah dan morfologinya tidak cacat).

3.9 Prosedur Penelitian

Langkah-langkah pelaksanaan penelitian adalah sebagai berikut.

3.9.1 Penyiapan Larva Uji

Untuk mendapatkan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir hingga instar IV awal, maka diperlukan langkah pemeliharaan mulai dari stadium telur. Telur tersebut diperoleh dari *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga Surabaya.

a. Identifikasi Telur *Aedes aegypti* L.

Identifikasi telur dilakukan dengan cara pengamatan mikroskopis. Peneliti meletakkan satu atau dua telur di atas kaca benda, ditutup dengan kaca benda, mengatur posisinya di bawah mikroskop, dan barulah dilakukan pengamatan morfologi telur *Aedes aegypti* L. Morfologi yang menjadi fokus penelitian meliputi warna, bentuk, ukuran, dan permukaan telur. Detail morfologi yang telah didapatkan dari hasil pengamatan selanjutnya dicocokkan dengan buku identifikasi “Pengenalan Pelajaran Serangga” (Borror, *et al.*, 1992: 670). Telur mampu dikatakan merupakan telur *Aedes aegypti* L. apabila telur berbentuk elips, berwarna hitam, ukurannya berkisar antara 0,5 mm - 0,8 mm, permukaan poligonal, dan tidak memiliki alat pelampung.

b. Penetasan Telur *Aedes aegypti* L.

Penetasan dilakukan dengan merendam kertas pias yang berisi telur nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam bak plastik berisi air, yang digunakan sebagai tempat penetasan. Peneliti selanjutnya menutup wadah penetasan dengan kain kasa.

c. Pemeliharaan Larva *Aedes aegypti* L.

Pada umumnya telur akan menetas menjadi jentik (larva) dalam waktu kira-kira 2 hari setelah telur terendam air (Sembiring, 2009: 9). Larva yang baru menetas selanjutnya dipindahkan ke dalam bak pemeliharaan yang telah diisi air. Pemeliharaan dilakukan sampai larva instar III akhir hingga instar IV awal. Selama proses pemeliharaan, larva mendapatkan asupan nutrisi untuk pertumbuhannya dari pellet ikan yang diberikan setiap harinya. 4 butir pellet ikan yang akan diberikan pada larva, digerus dengan mortir terlebih dahulu. Pemberian pakan dilakukan dengan menaburkan pakan pada bagian pojok-pojok bak pemeliharaan. Hal ini dimaksudkan untuk tetap menjaga salinitas air.

Selain pemberian pakan, hal yang perlu diperhatikan adalah pengamatan terhadap proses pergantian kulit (ekdisis) dari larva *Aedes aegypti* L. setiap harinya sebelum pemberian pakan, sehingga dapat ditentukan stadium larva tersebut.

Pergantian kulit ini ditandai dengan adanya lapisan yang biasa terdapat pada permukaan air. Lapisan ini harus diangkat menggunakan kertas saring, agar tidak mempengaruhi kondisi air.

Larva yang digunakan sebagai serangga uji adalah larva yang terseleksi dan homogen pada stadium larva instar III akhir hingga instar IV awal dengan kriteria sehat. Larva dikatakan sehat apabila memiliki gerakan lincah dan morfologinya tidak cacat.

d. Identifikasi Larva Uji

Tahap identifikasi larva uji dilakukan pada waktu larva dalam tahap instar III akhir hingga IV awal. Identifikasi dilakukan dengan cara mengambil larva instar III akhir-IV awal dengan pipet, kemudian memasukkannya ke dalam *petri dish* untuk selanjutnya ditetesi alkohol 70%. Kemudian larva tersebut diletakkan di atas kaca benda, diatur posisinya di bawah mikroskop, ditetesi dengan larutan *canada balsam*, ditutup, dan barulah dapat diamati secara mikroskopis. Pengamatan morfologinya meliputi warna, bentuk, ukuran, duri-duri lateral, dan pada ekornya akan nampak semacam corong udara (*siphon*) yang relatif pendek dan gembung dengan satu berkas rambut di daerah sub ventral. Ciri ini membedakannya dari larva nyamuk-nyamuk lainnya. Kemudian dicocokkan dengan buku identifikasi (Borror, *et al.*, 1992: 672).

3.9.2 Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pembuatan simplisia dan serbuk biji alpukat dilakukan dengan cara biji alpukat dipisahkan dengan daging buahnya. Pembuatan serbuk biji alpukat dilakukan dengan cara menghaluskan biji alpukat—yang telah dikeringanginkan selama 7 hari, dioven dengan suhu 40 °C selama 3 hari, dan dipotong-potong—dengan menggunakan *blender* dan menyaringnya hingga benar-benar diperoleh serbuk yang halus. Kemudian dilakukan maserasi dengan cara merendam serbuk biji alpukat 350 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2625 ml selama 3 hari 3 malam. Campuran tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hasil dari proses penyaringan

diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45–50 °C, dengan tekanan 15 mmHg. Penguapan menggunakan *rotary evaporator* dimaksudkan untuk memisahkan antara filtrat dan pelarutnya. Hasil maserasi yang telah diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas, ditutup *aluminium foil*, dan disimpan dalam lemari es untuk selanjutnya dilakukan uji KLT untuk mendeteksi adanya kandungan saponin pada biji alpukat. Apabila hasil KLT berupa noda berwarna hijau kebiruan, hal tersebut mengindikasikan adanya kandungan saponin (Rosida, 2002: 73).

3.9.3 Pembuatan Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Granula dapat terdiri dari satu jenis atau lebih bahan aktif, sedangkan zat pengisi diperlukan untuk memperbesar volume granula apabila zat aktif dalam jumlah kecil sehingga dapat dihasilkan berat dan volume granula yang sesuai (Stargoldman, 2012). Tidak ada standarisasi khusus untuk perbandingan antara zat aktif dan bahan pengisi yang akan digunakan, maupun suhu yang digunakan dalam pemanasan/pengeringannya. Bahan pengisi dapat bermacam-macam, salah satunya yang dapat digunakan adalah maltodekstrin (Rowe, *et al.*, 2009: 419).

Berdasarkan kajian di atas, peneliti menggunakan ekstrak biji alpukat sebanyak 1 gram dicampurkan dengan 5 gram maltodekstrin di atas cawan petri. Kemudian dilakukan pengadukan campuran tersebut agar tercampur merata. Hasil campuran kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven yang suhunya 60 °C. Dengan cara demikian emulsi ekstrak biji alpukat dapat dikeringkan dalam waktu 2 jam. Granula ekstrak biji alpukat yang kering dapat segera ditumbuk dengan mortir dan disaring menggunakan ayakan.

Untuk mendapatkan serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan pelarutan granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) ke dalam akuades dengan perbandingan tertentu sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan. Cara menentukan serial konsentrasi adalah sebagai berikut:

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg zat terlarut}}{1000 \text{ mL larutan}}$$

Satuan ppm (*part per million*) digunakan untuk menunjukkan kandungan suatu senyawa dalam suatu larutan. Pada penelitian ini, zat terlarut yang dimaksud adalah konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.), sedangkan larutannya adalah akuades. Seperti halnya namanya yaitu ppm, maka konsentrasinya merupakan perbandingan antara berapa bagian senyawa dalam satu juta bagian suatu sistem. Jadi rumus ppm secara sederhananya adalah satuan konsentrasi yang dinyatakan dalam satuan mg/kg, karena $1 \text{ kg} = 1.000.000 \text{ mg}$. Untuk satuan yang sering dipergunakan dalam larutan adalah mg/L, dengan ketentuan pelarutnya adalah air (akuades) sebab dengan densitas air (akuades) 1 g/mL maka 1 liter air memiliki masa 1 kg, jadi satuannya akan kembali ke mg/Kg. Contoh, kandungan granula ekstrak biji alpukat dalam akuades adalah 10 ppm artinya dalam setiap kg akuades terdapat 10 mg granula ekstrak biji alpukat.

3.9.4 Tahap Pembuatan Serial Konsentrasi

Serial konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm. Untuk mendapatkan serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus:

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

Keterangan:

V_1 : volume larutan standar

C_1 : konsentrasi mula-mula (konsentrasi larutan standar)

V_2 : volume larutan yang akan dibuat

C_2 : konsentrasi larutan yang akan dibuat

3.9.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Senyawa yang diuji dalam ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah saponin. Prosedur uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak biji alpukat adalah sebagai berikut. 0,2 gram ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dicampur dengan 2 ml HCl 2N di dalam tabung reaksi. Tabung tersebut selanjutnya

dididihkan dalam *beaker glass* yang telah berisi air pada suhu 200 °C dan ditutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah 2 jam, tabung reaksi diangkat dan dibiarkan dingin untuk selanjutnya dinetralkan dengan ammonia. Cara menguji tingkat kenetralannya adalah dengan memasukkan potongan lakmus merah ke dalam tabung reaksi.

Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah mengekstraksinya dengan 1 ml n.heksana sebanyak 3 kali, kemudian diuapkan sampai tinggal 0,5 ml. Hasil tersebut kemudian ditotolkan pada pelat KLT, dan eluasi pada eluen n-heksana : etil asetat (4:1). Setelah selesai eluasi dan pelat telah kering, pelat disemprot dengan aniseldehida asam sulfat, kemudian dipanaskan pada suhu 115 °C selama 5 menit.

3.9.6 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan dengan tujuan untuk menentukan variasi dan interval dosis yang akan digunakan dalam pengujian akhir. Pengujian ini cukup dilakukan satu kali ulangan dalam satu serial dosis dari dosis minimal yang dapat mematikan larva uji sampai dengan tujuh variasi dosis. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi yang dapat mengakibatkan kematian larva 5% dan 95% dalam waktu dedah 24 jam. Untuk tiap wadah perlakuan diisi dengan 20 larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Cara kerja uji pendahuluan ini sebagai berikut:

- a. Menyiapkan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai instar IV awal.
- b. Menyiapkan beberapa gelas air mineral, setelah itu mengisinya dengan serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat yang telah ditetapkan sebanyak 100 ml, Kontrol positif menggunakan abate, sedangkan kontrol negatif dengan menggunakan akuades. Kemudian memasukkan 20 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* L. secara perlahan-lahan. Gelas tersebut selanjutnya ditutup dengan kain kasa. Berikut rancangan penelitian untuk uji pendahuluan (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Rancangan Uji Pendahuluan

Perlakuan	Serial Konsentrasi (ppm)
K-	0
K+	50
P1	50
P2	100
P3	250
P4	500
P5	1000
P6	1500
P7	2000

Keterangan:

K- : Kontrol negatif (akuades tanpa dicampur dengan abate ataupun granula ekstrak biji alpukat)

K+ : Kontrol positif (akuades dicampur dengan abate)

P : Perlakuan (granula ekstrak biji alpukat dengan serial konsentrasi tertentu dicampur dengan akuades sampai volume 100 ml)

Hal yang perlu untuk tetap dikontrol adalah suhu dan kelembaban ruangan. Suhu diukur menggunakan termometer, sedangkan kelembaban ruangan diukur menggunakan higrometer. Pengaruh lingkungan yaitu suhu udara dan kelembaban udara juga berpengaruh bagi viabilitas nyamuk *Aedes aegypti* L. Suhu yang relatif rendah atau relatif tinggi, serta kelembaban udara yang rendah dapat mengurangi viabilitas nyamuk itu sendiri. Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan 3 kali setiap 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam kemudian dirata-rata.

- c. Mengamati jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mengalami kematian (mortalitas) tiap satu jamnya selama 24 jam. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dikatakan mati apabila larva tidak bergerak ketika disentuh menggunakan lidi dan tenggelam di dasar gelas. Penentuan secara kimia dilakukan dengan meneteskan larva yang dianggap mati dengan larutan eosin. Larva yang berwarna pucat atau transparan setelah ditetesi larutan eosin, menandakan bahwa larva tersebut dalam keadaan mati.

3.9.7 Uji Akhir

Pengujian dilakukan dalam satu serial dosis dari dosis yang menyebabkan kematian \pm 95% larva uji sampai dengan 5% berdasarkan hasil pengujian pendahuluan. Pada pengujian akhir ditentukan beberapa serial konsentrasi, satu pembanding insektisida sintetik (kontrol positif) yaitu serbuk abate dan kontrol negatif (akuades). Cara kerja pada uji akhir/uji sesungguhnya sama dengan uji pendahuluan, masing-masing perlakuan diisi dengan 20 larva, hanya saja pada uji akhir ini terdapat replikasi (pengulangan) sebanyak tiga kali. Uji akhir dilakukan untuk mengetahui kematian larva 5% sampai 95% dalam waktu dedah 24 jam.

Pada uji akhir ini juga dilakukan pengamatan morfologi larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mati, perilaku serta perkembangan larva nyamuk yang masih hidup sampai berkembang menjadi dewasa. Tahap uji akhir penelitian dijelaskan sebagai berikut.

- a. Menyiapkan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai instar IV awal.
- b. Menyiapkan beberapa gelas air mineral, setelah itu mengisinya dengan larutan serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang berbeda-beda sebanyak 100 ml. Kontrol positif menggunakan abate, sedangkan kontrol negatif dengan menggunakan akuades. Kemudian memasukkan 20 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* L. secara perlahan-lahan pada tiap gelas yang telah berisi larutan granula ekstrak biji alpukat. Gelas tersebut selanjutnya ditutup dengan kain kasa. Hal yang perlu untuk tetap dikontrol adalah suhu dan kelembaban ruangan. Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan 3 kali setiap 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam kemudian dirata-rata.
- c. Mengamati jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mengalami kematian (mortalitas) tiap satu jamnya selama 24 jam.
- d. Mencatat jumlah larva yang mati dan menganalisis LC_{50} dan LT_{50} dengan menggunakan analisis probit. Apabila mortalitas larva nyamuk kontrol sebesar 5–

20% maka dilakukan koreksi persentase dengan menggunakan rumus Abbott sebagai berikut (Heong, *et al.*, 2010: 3).

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

P : Persen mortalitas setelah koreksi

Po : Persen mortalitas larva nyamuk uji

Pc : Persen mortalitas larva nyamuk kontrol

Jika persentase mortalitas larva nyamuk kontrol > 20%, maka pengujian dianggap gagal dan harus diulang kembali. Berikut rancangan penelitian untuk uji akhir (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Rancangan Uji Akhir

Perlakuan	Ulangan ke-		
	1	2	3
K-	K-U1	K-U2	K-U3
K+	K+U1	K+U2	K+U3
P1	P1U1	P1U2	P1U3
P2	P2U1	P2U2	P2U3
P3	P3U1	P3U2	P3U3
P4	P4U1	P4U2	P4U3
P5	P5U1	P5U2	P5U3
P6	P6U1	P6U2	P6U3

Keterangan:

K- : Kontrol negatif menggunakan akuades (0 ppm)

K+ : Kontrol positif menggunakan abate dengan konsentrasi 50 ppm

P1 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 50 ppm

P2 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 60 ppm

P3 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 70 ppm

P4 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 80 ppm

P5 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 90 ppm

P6 : Granula Ekstrak Biji Alpukat dengan konsentrasi 100 ppm

U : Ulangan

Dengan demikian dibutuhkan \pm 480 larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir-IV awal untuk uji akhir ini.

3.9.8 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah:

a. Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Mortalitas larva nyamuk diketahui dengan menyentuhkan lidi lentur pada larva, apabila larva tidak bergerak, dapat dikatakan bahwa larva dalam keadaan mati. Sebaliknya apabila larva bergerak, berarti larva masih dalam keadaan hidup. Sedangkan secara kimia, tubuhnya berwarna transparan atau pucat apabila ditetesi larutan eosin karena sel-sel tubuh nyamuk yang mati tidak dapat menyerap zat warna.

b. Perubahan Suhu dan Kelembaban Lingkungan

Pengamatan suhu dilakukan dengan menggunakan termometer, sedangkan pengamatan kelembaban udara dilakukan dengan menggunakan higrometer. Pengamatan suhu dan kelembaban udara dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam. Suhu air yang digunakan untuk penetasan telur juga perlu diukur yaitu pada saat sebelum kertas pias yang berisi telur dimasukkan dan selama penetasan. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali. Pengulangan dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh suatu taksiran yang baik terhadap efek rata-rata suhu dan kelembaban. Selain itu adanya pengulangan digunakan sebagai satuan dasar pengukuran dalam penetapan taraf signifikansi dari perbedaan-perbedaan yang diamati.

3.10 Analisis Data Hasil Penelitian

Larva nyamuk yang telah diuji menggunakan berbagai perlakuan setelah 24 jam, dihitung angka kematiannya (mortalitasnya) untuk menentukan konsentrasi yang akan diambil untuk uji selanjutnya.

a. Mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat pemberian granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

- b. Apabila mortalitas larva nyamuk kontrol sebesar 5–20% maka dilakukan koreksi persentase dengan menggunakan rumus Abbot sebagai berikut (Heong, *et al.*, 2010: 3).

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

P : Persen mortalitas setelah koreksi

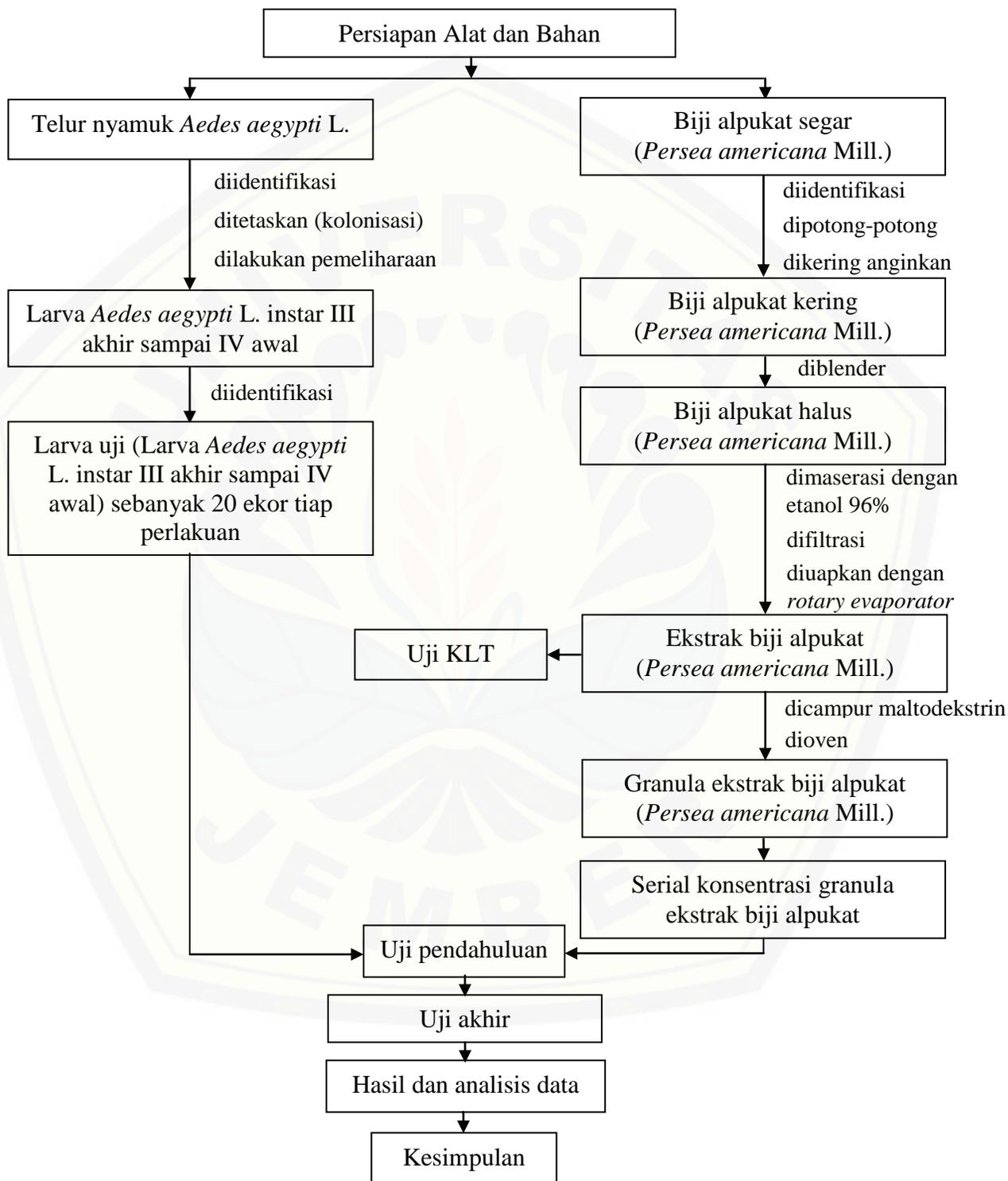
Po : Persen mortalitas larva nyamuk uji

Pc : Persen mortalitas larva nyamuk kontrol

Jika persentase mortalitas larva nyamuk kontrol > 20%, maka pengujian dianggap gagal dan harus diulang kembali.

- c. Untuk nilai LC_{50} dan LT_{50} dapat ditentukan dengan menggunakan analisis probit. *Software* yang digunakan adalah *Minitab 14*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian