



**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.)
DAN BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Oleh
Muhammad Roy Fayzal Ramadhan
NIM 120210103069

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.)
DAN BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh
Muhammad Roy Fayzal Ramadhan
NIM 120210103069

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala kelimpahan rahmat serta hidayah-Nya, dan sholawat serta salam tertuju kepada Nabi Agung Muhammad SAW, Saya sembahkan skripsi ini dengan segala cinta dan kasih sayang kepada:

1. Ayahanda tercinta Hariyanto dan Ibunda tersayang Hartatik, yang selalu memberikan kasih sayang dan dukungan yang tulus tanpa henti serta iringan do'a yang selalu beliau panjatkan kepada Allah SWT untuk keberhasilan dan kesuksesan saya.
2. Keluarga besar tersayang Kakek Hamid, Nenek Atma, Mas Bambang, Mbak Linda, Mbak Ningrum, dan Mbak Fitri sekeluarga yang telah memberikan dukungan dan motivasi.
3. Guru-guru sejak TK sampai SMA dan Semua Dosen khususnya Dosen Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Jember yang telah memberikan segenap ilmunya serta memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
4. Almamater program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas jember yang menjadi kebanggaanku.

MOTTO

Dan Tuhanmu berfirman: “Berdoalah kepada-Ku niscaya akan Kuperkenankan bagimu”

(Terjemahan Surat Al-Mu'min: 60)¹⁾

“Sebaik- baiknya manusia yaitu bermanfaat bagi orang lain”

(H.R. Thabrani Daruqutni'an Jabir r.a.)²⁾

¹⁾ Dapartemen Agama RI. 2009. Alqur'an dan terjemahannya. Bandung: PT. Sigma Iksa Media

²⁾ Dapartemen Agama RI. 2001. Kitab shahibul jami' dan terjemahannya. Bandung: PT. Sigma Iksa Media

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Muhammad Roy Fayzal Ramadhan

NIM : 120210103069

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Toksistas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Agustus 2016

Yang menyatakan.

Muhammad Roy Fayzal R.

NIM. 120210103069

SKRIPSI

**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.)
DAN BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

Oleh

Muhammad Roy Fayzal Ramadhan

NIM. 120210103069

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.

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

PERSETUJUAN

**TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.)
DAN BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

Nama : Muhammad Roy Fayzal R.
NIM : 120210103069
Tempat dan Tanggal Lahir : Probolinggo, 12 Maret 1994
Jurusan/Program : MIPA/Pendidikan Biologi

Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.
NIP. 195711028 198503 1 1001

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

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Toksitas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.” ini telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 18 Agustus 2016

Tempat : Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.
NIP. 195711028 198503 1 1001

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

Anggota I.

Anggota II,

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

Bevo Wahono, S.Pd. M.Pd.
NIP.19870526 201212 1 002

Mengetahui,

Dekan Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan

Universitas Jember

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.

NIP. 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.; Muhammad Roy Fayzal Ramadhan, 120210103069; 65 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Aedes aegypti L. merupakan vektor utama dari beberapa penyakit kosmopolit, seperti Demam Berdarah Dengue (DBD) dan yellow fever. Penyebaran penyakit ini sangat luas hampir semua daerah tropis di seluruh dunia. *Aedes aegypti* L. juga terlibat dalam penyebaran penyakit chikungunya bahkan pada akhir 2016 WHO telah menetapkan *Aedes aegypti* L. sebagai vektor virus zika penyebab penyakit microcephaly and Guillain-Barré syndrome. Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia merupakan ancaman besar bagi kesehatan penduduk Indonesia sejak tahun 1968-sekarang, mengingat luas dan juga kondisi iklim di Indonesia yang mendukung bagi berkembang biaknya *Aedes aegypti* L. Upaya preventif dalam menanggulangi penyakit tersebut dilakukan dengan mengendalikan perkembangbiakan vektor, yaitu *Aedes aegypti* L. Pengendalian *Aedes aegypti* L., yang dilakukan masih dititikberatkan pada penggunaan larvasida kimia yang memiliki dampak negatif bagi lingkungan, sehingga untuk mengurangi dampak negatif dari larvasida kimia yaitu mencari insektisida alternatif yang lebih ramah lingkungan berupa larvasida botani.

Tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai sumber larvasida botani adalah pepaya (*Carica papaya* L.) dan srikaya (*Annona squamosa* L.). Biji pepaya memiliki kandungan alkaloid carpain yang bersifat toksik terhadap larva bahkan dapat menyebabkan kematian larva, sedangkan biji srikaya mengandung senyawa bioaktif, yaitu annonain dan skuamosin yang termasuk dalam golongan asetogenin yang bersifat sebagai insektisida, akarisisida, antiparasit dan bakterisida. Menurut Shaalan *et al.* (2005), pencampuran beberapa senyawa aktif dari beberapa larvasida botani dapat memberikan efek seperti sinergis, antagonis, dan aditif. Sehingga apabila dua senyawa

aktif biji srikaya dan biji pepaya yang bersifat toksik ini dicampurkan, diharapkan akan mampu meningkatkan toksisitas terhadap larva *Aedes aegypti* L.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L dalam waktu dedah 24 jam. Penelitian dilakukan di Laboratorium Toksikologi Pendidikan Biologi, Universitas Jember. Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak, stok dan berbagai serial konsentrasi yang dibutuhkan. Kemudian memasukkan 20 Larva *Aedes aegypti* L. pada setiap serial konsentrasi dan melakukan pengulangan sebanyak 4 kali pada setiap serial konsentrasi. Pengamatan kematian larva dilakukan dalam waktu dedah 24 jam. Penentuan LC₅₀ diperoleh dengan menggunakan analisis probit dengan program komputer *Minitab 17*.

. Hasil penelitian menunjukkan LC₅₀ campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah 42,0129 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa toksisitas campuran ekstrak lebih tinggi dibandingkan toksisitas ekstrak tunggalnya, dimana LC₅₀ dari ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) sebesar 113,271 ppm dan LC₅₀ dari ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) sebesar 4144,27 ppm. Hasil indeks kombinasi menunjukkan angka 0,38 yang mengartikan bahwa campuran bersifat sinergis. Kesinergisan tersebut disebabkan oleh senyawa aktif yang memiliki mekanisme kerja racun yang berbeda pada masing-masing ekstrak saling mendukung. Senyawa aktif *alkaloid annonaine* biji srikaya bekerja sebagai racun perut, racun kontak dan racun saraf, sedangkan *acetogenine squamocin* biji srikaya juga bekerja sebagai racun perut dan racun kontak. Senyawa kimia yang terkandung biji pepaya berupa *alkaloid carpaine* bekerja sebagai racun kontak, racun perut dan racun saraf, saponin bekerja sebagai racun perut, racun kontak, dan racun pernafasan, tannin bekerja sebagai racun perut, *phenol* dan *flavonoid* bekerja sebagai racun pernafasan. Senyawa-senyawa tersebut akan saling melengkapi dan mendukung yang berdampak pada peningkatan kadar toksisitas.

PRAKATA

Puji syukur atas ke hadirat Allah SWT atas karunia-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Toksistas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan fakultas keguruan dan ilmu Pendidikan Universitas Jember.
2. Dr. Hj. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember dan selaku Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
4. Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
5. Dr. Jekti Prihatin, M. Si., selaku Dosen Penguji Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
6. Bapak Bevo Wahono, S. Pd., M. Pd., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
7. Semua dosen Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember atas semua ilmu yang telah diberikan selama saya menjadi mahasiswa.

8. Bapak Tamyis, mas Enki, mas Andi, dan mbak Evi selaku teknisi laboratorium di Program Studi Pendidikan Biologi.
9. Ibu Widi dan Ibu Anggra selaku teknisi di laboratorium biologi Farmasi yang telah membantu proses pembuatan ekstrak.
10. Sahabat yang tergabung dalam Paguyuban “GOSIP” yaitu Sandy, Luthfiyatul, Rizka, dan Wulan yang telah memberi semangat dan dukungan dari awal semester.
11. Sahabat “Majelis 21” Bapak Muhammad Iqbal, S.Pd., M.Pd., Sandy, Latif. Ikhrom, Sigit, Ervan, Ardiyansah, Efendi, Rizki dan Rahmat yang membantu dan saling memotivasi satu sama lain.
12. Teman-teman seperjuangan Latif, Intania, Faizah, Ardiansyah, Fardian, dan semuanya yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah saling membantu dan memotivasi satu sama lain
13. Sahabat “X Class” Ervan, Wulan, Luthfiyatul, Maya, Henik, Sakalus, Zakyah, Naning, Ika, Raras, Nisa, Ifa, April, Bella, Saltsa, Mia, Firda, Alfi dan Siska yang saling berbagi motivasi satu sama lain.
14. 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, Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1. 1 Latar Belakang.....	1
1. 2 Rumusan Masalah	3
1. 3 Batasan Masalah	4
1. 4 Tujuan Penelitian.....	4
1. 5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2. 1 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L.....	6
2. 1. 1 Klasifikasi <i>Aedes aegypti</i> L.	6
2. 1. 2 Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L.	7
2. 1. 3 Morfologi <i>Aedes aegypti</i> L.	9

2. 2 Insektisida	14
2. 3 Srikaya (<i>Annona squamosal L.</i>)	16
2. 3. 1 Klasifikasi Srikaya (<i>Annona squamosal L.</i>)	17
2. 3. 2 Kandungan biji srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>).....	18
2. 4 Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	19
2. 4. 1 Klasifikasi pepaya (<i>Carica papaya L.</i>).....	20
2. 4. 2 Kandungan biji pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	21
2. 5 Ekstraksi	21
2. 6 Kerangka Teori	23
2. 7 Hipotesis	24
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3. 1 Jenis Penelitian	25
3. 2 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3. 3 Identifikasi Variabel Penelitian	25
3. 3. 1 Variabel bebas	25
3. 3. 2 Variabel terikat	25
3. 3. 3 Variabel kontrol	25
3. 4 Alat dan Bahan	26
3. 4. 1 Alat Penelitian.....	26
3. 4. 2 Bahan Penelitian	26
3. 5 Definisi Operasional	26
3. 6 Jumlah dan Kriteria Sampel	27
3. 7 Desain Penelitian	28
3. 7. 1 Desain Uji Pendahuluan.....	28
3. 7. 2 Desain Uji Akhir.....	28
3. 8 Prosedur Penelitian	30
3. 8. 1 Persiapan Penelitian.....	30

3. 8. 2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dan Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	32
3. 8. 3 Tahap Uji Pendahuluan.....	33
3. 8. 4 Tahap uji akhir	34
3. 9 Analisi Data	36
3. 10 Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian.....	40
4.2 Analisis Data.....	45
4.3 Pembahasan.....	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dan Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti</i> L.) dalam masa dedah 24 jam	29
3.2 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti</i> L.) dalam masa dedah 24 jam.....	29
3.4 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (<i>Aedes aegypti</i> L.) dalam masa dedah 24 jam	30
4.1 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Campuran Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor	42
4.2 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor	43
4.3 Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor	44
4.4 Analisis Probit LC50 Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dan Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.); Toksisitas ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.); dan Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap mortalitas Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dalam waktu dedah 24 jam	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1	Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i> L..... 8
2.2	Telur <i>Aedes aegypti</i> L. perbesaran 600x 10
2.3	Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. instar IV perbesaran 100x 11
2.4	Pupa nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. 12
2.5	<i>Aedes aegypti</i> L. betina dewasa 13
2.6	Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.)..... 17
2.7	Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)..... 20
2.8	Bagan Kerangka Teori 23
3.1	Bagan Alur Penelitian 39
4.1	Histogram Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Campuran Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam 42
4.2	Histogram Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam 43
4.3	Histogram Mortalitas (%) Larva <i>Aedes aegypti</i> L. pada Uji Akhir dengan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam 45
4.2	Mekanisme Keracunan Ekstrak Biji Pepaya dan Biji Srikaya terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. 57

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran I.	Matriks Penelitian.	66
Lampiran II.	Hasil Uji	68
Lampiran III.	Analisis LC ₅₀ Minitab 17	73
Lampiran IV.	Kandungan Ekstrak Biji Pepaya	79
Lampiran V.	Kandungan Ekstrak Biji Srikaya.....	80
Lampiran VI.	Hasil Penelitian	81
Lampiran VII.	Dokumentasi Penelitian	82
Lampiran VII	Surat Ijin Penelitian.....	84
Lampiran VIII	Lembar Konsultasi	85

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyebaran penyakit melalui vektor serangga semakin pesat pada era globalisasi, misalnya penyakit demam berdarah, kaki gajah, dan malaria. Penyebaran melalui vektor serangga ini terjadi khususnya melalui gigitan nyamuk. Nyamuk merupakan kelas Insecta, ordo Diptera dan famili Culicidae, yang mana terdapat genus berbahaya dalam bidang kesehatan seperti *Anopheles* (vektor penyakit malaria), *Aedes* (vektor penyakit demam berdarah) dan *Culex* (vektor dari beberapa penyakit protozoa, cacing, dan virus) (Geocities, 2006).

Aedes aegypti L. merupakan vektor utama dari beberapa penyakit kosmopolit, seperti Demam Berdarah *Dengue* (DBD) dan *yellow fever*. Penyebaran penyakit ini sangat luas hampir semua daerah tropis di seluruh dunia (Soegijanto, 2004). *Aedes aegypti* L. juga terlibat dalam penyebaran penyakit chikungunya bahkan pada akhir 2016 WHO telah menetapkan *Aedes aegypti* L. sebagai vektor virus *zika* penyebab penyakit microcephaly and Guillain-Barré syndrome (WHO, 2016).

Penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) di Indonesia merupakan ancaman besar bagi kesehatan penduduk Indonesia sejak tahun 1968-sekarang. Menurut Kemenkes RI tahun 2015 data kasus DBD menunjukkan peningkatan sebesar 46% jika dibandingkan dengan tahun 2014 di bulan yang sama, yaitu 980 kasus. Sedangkan pada bulan Januari-Februari 2016 Kemenkes RI mencatat jumlah penderita DBD sebanyak 8.487 orang penderita DBD dengan jumlah kematian 108 orang (Kemenkes, 2016).

Upaya preventif dalam menanggulangi ancaman DBD adalah dengan cara mengendalikan perkembangbiakan vektor, yaitu *Aedes aegypti* L. Umumnya dalam pengendalian *Aedes aegypti* L., dilakukan dengan menggunakan larvasida kimia. Pemberian larvasida berupa butiran pasir temefos 1% terbukti ampuh untuk memberantas jentik nyamuk *Aedes* sp. selama 8-12 minggu (WHO, 2005). Butiran

pasir temefos 1% dikenal dengan nama abate, dan pemberian abate ini disebut dengan abatisasi. Penggunaan abate sendiri telah direkomendasikan sejak 1970 oleh WHO, sedangkan di Indonesia sejak tahun 1976. Penggunaan abate ditetapkan sebagai bagian dari program pemberantasan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Penggunaan abate secara terus menerus dalam waktu lama dapat menyebabkan resistensi, sehingga pengendalian vektor yang dilakukan menjadi tidak efektif. Akhir-akhir ini telah banyak ditemui laporan terkait resistensi larva *Aedes aegypti* L. terhadap abate, misalnya saja telah ditemukan di negara seperti, Brazil, Bolivia, Argentina, Kuba, Karibia, dan Thailand (Felix, 2008). Sedangkan resistensi jentik *Aedes aegypti* L. terhadap abate dilaporkan telah terjadi di beberapa daerah di Indonesia, misalnya di Banjarmasin Barat (Istiana, 2012). Penggunaan larvasida kimia juga dapat mencemari lingkungan, sehingga perlu dilakukan upaya dalam mengurangi dampak tersebut. Dari semua dampak negatif, maka diperlukan adanya larvasida alternatif yang mudah terurai, yaitu larvasida botani (Fajri, 2010)

Penggunaan larvasida botani sebagai alternatif pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* L. kian menjadi perhatian peneliti. Akhir-akhir ini telah banyak ditemukan famili tumbuhan yang dianggap potensial sebagai larvasida botani seperti: Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, Piperaceae dan Rutaceae (Kardinan, 2002). Namun, selain famili tersebut masih ada jenis famili tumbuhan yang potensial sebagai larvasida misalnya Caricaceae yang mengandung senyawa alkaloid (Okoye, 2011).

Papaya (*Carica papaya* L.) termasuk dalam suku Caricaceae, bagian pepaya yang sering dimanfaatkan sebagai larvasida adalah biji pepaya. Biji pepaya memiliki kandungan alkaloid carpain yang bersifat toksik terhadap larva bahkan dapat menyebabkan kematian larva, disamping itu juga terdapat kandungan papain yang bersifat proteolitik dan menghambat hormon pertumbuhan larva bahkan menyebabkan kematian larva (Utomo, 2010). Penelitian tentang ekstrak biji pepaya untuk mengendalikan larva nyamuk telah dilakukan oleh Syarah (2015) yang menyatakan bahwa toksisitas ekstrak biji pepaya terhadap larva nyamuk *Culex* sp. menghasilkan

nilai LC_{50} dan LC_{90} dalam dedah waktu 24 jam sebesar 4277,67 ppm dan 7611 ppm. Selain biji pepaya, sebenarnya telah banyak dilakukan penelitian ilmiah mengenai larvasida botani nyamuk *Aedes aegypti* L. dari biji srikaya yang mengandung beberapa senyawa aktif seperti annonain dan skuamosin yang telah terbukti mampu menghambat proses pembentukan energi metabolik. Bahkan telah dilakukan uji toksisitas ekstrak biji srikaya terhadap larva nyamuk *Aedes* sp. yang menghasilkan nilai LC_{50} dalam masa dedah 24 jam sebesar 100 ppm (Isman, 2014).

Penelitian berkenaan mengenai perpaduan dua ekstrak tumbuhan sebagai larvasida masih terbilang jarang dilakukan. Namun, pernah dilakukan uji toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan hasil LC_{50} sebesar 6,25 ppm, nilai tersebut terbilang lebih rendah bila dibandingkan dengan LC_{50} ekstrak daun sirih yaitu 820,33 ppm atau LC_{50} ekstrak biji srikaya yaitu 12,54 ppm (Loren, 2016). Menurut Shaalan *et al.* (2005), pencampuran beberapa senyawa aktif dari beberapa ekstrak dapat memberikan efek seperti sinergis, antagonis, dan aditif. Sehingga apabila dua senyawa aktif biji srikaya dan biji pepaya yang bersifat toksik ini dicampurkan, diharapkan akan mampu meningkatkan toksisitas untuk membunuh larva *Aedes aegypti* L. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu diadakan penelitian dengan judul “Toksitas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona Squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan dirumuskan sebagai berikut.

- a. Berapakah toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam?

- b. Bagaimana toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dibandingkan dengan toksisitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam?
- c. Apakah toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam bersifat sinergis, antagonis, atau aditif?

1.3 Batasan Masalah

Agar masalah ini pembahasannya tidak meluas, sehingga sesuai dengan tujuan yang diharapkan, maka permasalahan ini dibatasi sebagai berikut.

- a. Biji srikaya (*Annona squamosa* L.) yang digunakan sebagai ekstrak adalah biji srikaya utuh yang berasal dari buah srikaya yang sudah tua dan berwarna hitam yang diambil dari desa kotakan kabupaten Situbondo, Jawa Timur.
- b. Biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang digunakan sebagai ekstrak adalah biji pepaya utuh yang sudah tua dan berwarna agak kecoklatan yang diambil dari pasar baru Probolinggo, Jawa Timur.
- c. Campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan perbandingan 1:1 dan etanol 97% sebagai pelarut.
- d. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang digunakan dalam penelitian ini adalah instar III akhir hingga instar IV awal, duri didada sudah jelas, dan corong pernapasan berwarna hitam yang terseleksi sehat dan lincah.

1.4 Tujuan penelitian

Adapun tujuan dari penelitian sebagai berikut.

- a. Untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L dalam waktu dedah 24 jam.

- b. Untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dibandingkan dengan toksisitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam.
- c. Untuk mengetahui toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam bersifat sinergis, antagonis, atau aditif.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan:

- a. Akademik, sebagai sumber informasi dan bahan masukan civitas akademika selanjutnya tentang toksisitas campuran ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva *Aedes aegypti* L.
- b. Peneliti, untuk menambah wawasan mengenai tanaman yang dapat digunakan sebagai bioinsektisida dan sebagai pengembangan ilmu baik itu yang berhubungan dengan pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* L. ataupun menambah wawasan tentang tanaman bioinsektisida yang ada di Indonesia.
- c. Masyarakat, memberikan informasi tentang cara baru dalam pengendalian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yaitu dengan bioinsektisida yang ramah lingkungan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. pada dasarnya terdapat di air bersih yang tergenang. *Aedes aegypti* L. merupakan vektor utama pembawa virus dengue penyebab penyakit demam berdarah (Adifian *et al*, 2013). Walaupun beberapa dari spesies aedes bertindak sebagai vektor demam kuning, *dengue filariasis* dan, *encephalitis* virus (Brown, 1979).

Virus dengue tidak diturunkan kepada keturunannya (telur) oleh nyamuk *Aedes aegypti* L., virus tersebut membutuhkan masa tunas 8-20 hari sebelum nyamuk menjadi infeksi (Brown, 1979). Sehingga upaya terbaik dalam pengendalian penyakit demam berdarah ini dengan cara menekan perkembangan vektornya. Untuk menekan perkembangan vektor tersebut, salah satunya dengan mengetahui ciri-ciri dari nyamuk *Aedes aegypti* L. terlebih dahulu. Ciri-ciri atau karakter tersebut nantinya akan menjadi landasan dalam klasifikasinya.

2.1.1 Klasifikasi *Aedes aegypti* L.

Klasifikasi *Aedes aegypti* L. didasarkan atas karakter terlihatnya spektrum pola sisik yang bersambungan di sepanjang penyebarannya, mulai dari bentuk yang paling pucat hingga yang paling gelap, yang mana sangat erat kaitannya dengan perbedaan perilakunya (Widiyastuti dan Salmiyatun, 2004). Klasifikasi Ilmiah dari nyamuk *Aedes aegypti* L. sebagai berikut.

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Subphylum : Hexapoda
Class : Insecta
Subclass : Pterygota

Superorder : Holometabola
Order : Diptera
Suborder : Nematocera
Family : Culicidae
Subfamily : Culicinae
Genus : Aedes
Species : *Aedes aegypti* L.
(ITIS, 2003).

Klasifikasi dari *Aedes aegypti* L. yang didasarkan pada terlihatnya spektrum pola sisik, dimana perbedaan tersebut erat kaitanya dengan perbedaan perilakunya, sehingga dapat pula berdampak terhadap perbedaan siklus hidupnya.

2.1.2 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L.

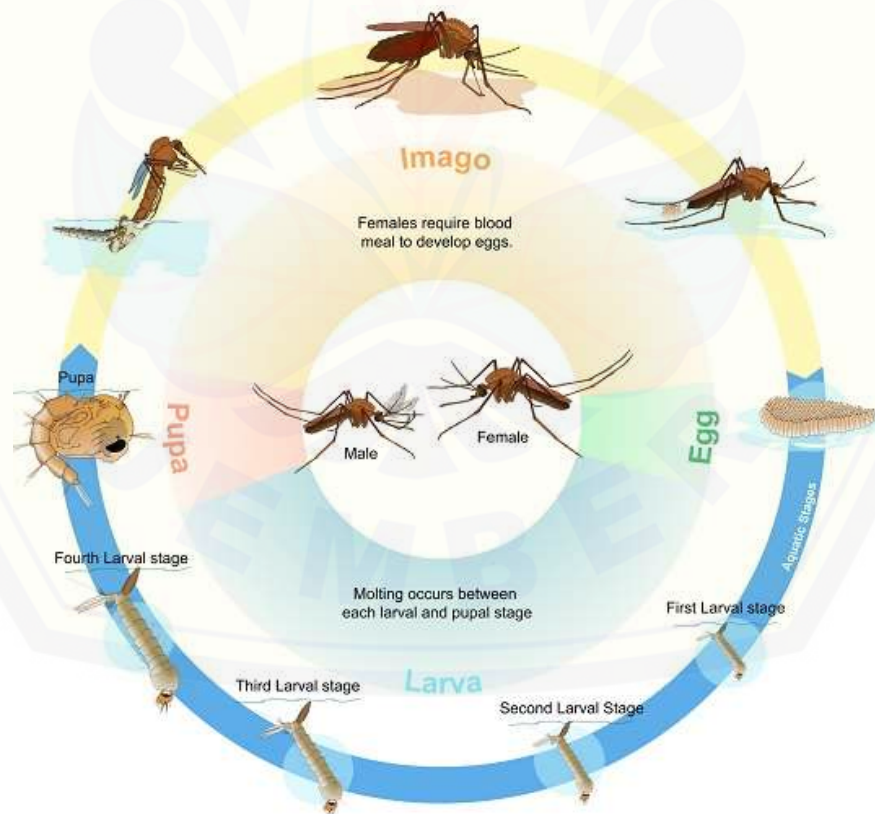
Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L., pada dasarnya melalui enam tahap sebagai berikut.

- a. Tahap pertama, proses *mating* (perkawinan antara nyamuk jantan dan betina) setelah keluar dari pupa dengan jarak waktu 12-24 jam. Mating merupakan bagian dari siklus reproduksi yang dapat terjadi secara alamiah (*nature mating*) di alam dan disengaja (*artificial mating*) untuk kepentingan tertentu.
- b. Tahap kedua, proses *host finding* (penemuan inang). Biasanya hanya dilakukan oleh nyamuk *Aedes aegypti* L. betina yang membutuhkan darah untuk suplai nutrisi bagi telur-telurnya. Umumnya *Aedes aegypti* L. mencari inang pada pagi hari dan sore hari.
- c. Tahap ketiga, proses *bitting cycle* yaitu nyamuk *Aedes aegypti* L. betina yang telah menemukan inangnya akan segera menggigit inang tersebut. *Aedes aegypti* L. betina menggunakan mocong untuk menggigit dengan tubuh agak turun ke bawah secara singkat, hal ini berkaitan dengan sifatnya yang sensitive dan mudah terganggu.

d. Tahap keempat, proses *blood feeding* digunakan untuk perkembangan ovarium, serta oviposisi. Pada saat menghisap darah nyamuk betina akan mengeluarkan cairan dari anusnyanya dan akan mencerna $4,2 \text{ mm}^2$ disertai dengan pengeluaran cairan sebanyak $1,5 \text{ mm}^2$ setiap 15 menit.

e. Tahap kelima, perkembangan ovarian dipicu oleh adanya peregangan pada usus pada bagian tengah seperti saat mencerna darah. Perkembangan oosit dipengaruhi oleh sistem saraf dan sedangkan tahap kedua dari pembentukan telur dipengaruhi oleh sistem hormonal

f. Tahap keenam, proses oviposisi pada *Aedes aegypti* L. mengikuti *cycardia rhythm* yang berkisar pada sesaat sebelum matahari terbenam dan selalu berulang. Oviposisi membutuhkan waktu sekitar 21-23 jam dan telur ditampung setelah matang (Rahmawati, 2004).



Gambar 2.1 Siklus Hidup *Aedes aegypti* L. (Sumber: Mariana Ruiz Villarreal, 2016)

Siklus hidup *Aedes aegypti* L. mengalami beberapa tahapan perubahan bentuk (metamorfosa) sempurna yaitu dari telur, jentik (larva), kepompong (pupa) dan nyamuk dewasa (Sayono *et al.*, 2012). Setiap fase perkembangannya, dapat dibedakan berdasarkan ciri-ciri anatomi dan morfologi dari masing-masing tahapan dalam siklus hidupnya.

2.1.3 Morfologi *Aedes aegypti* L.

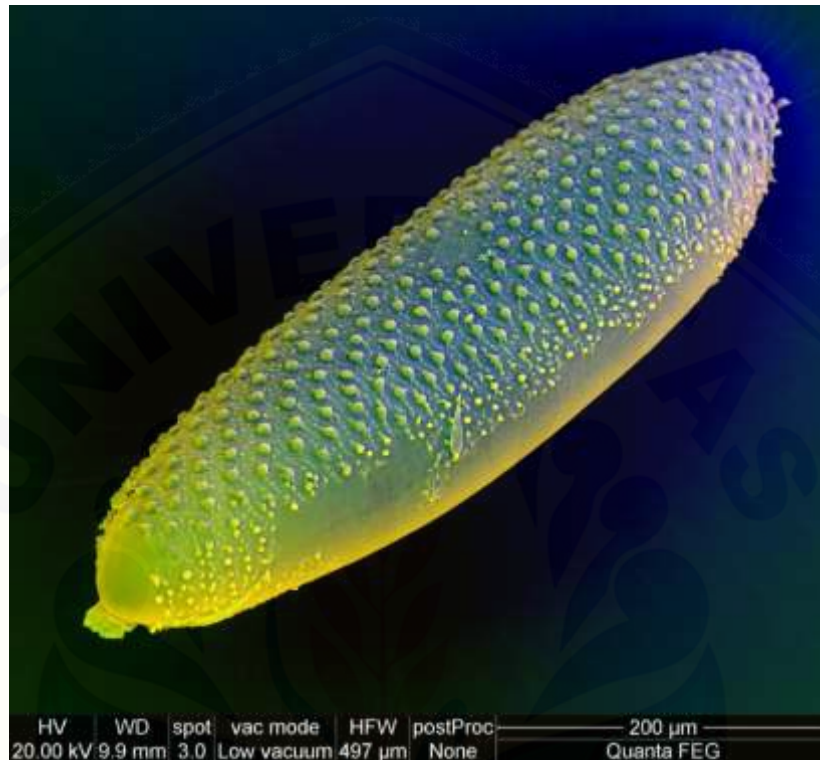
Nyamuk *Aedes aegypti* mendapat julukan *black-white mosquito*, karena tubuhnya terdapat tanda dengan pita atau garis-garis putih keperakaan di atas warna hitam. Ciri khas utamanya adalah dua garis lengkung yang berwarna putih keperakaan di kedua sisi lateral dan dua buah garis putih sejajar di garis median dari punggungnya yang berwarna dasar hitam (Soegijanto, 2004). Morfologi dari *Aedes aegypti* L. dapat dilihat dari tahapan perubahan bentuk dalam siklus hidupnya, meliputi tahap telur, tahap larva, tahap pupa, serta tahap dewasa, dan setiap tahap akan memiliki morfologi yang berbeda-beda

a. Telur *Aedes aegypti* L.

Telur *Aedes aegypti* 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 (Soegijanto, 2004). Telur dapat bertahan berbulan-bulan pada suhu -2°C sampai 42°C dalam keadaan kering. Telur ini akan menetas jika kelembapan terlalu rendah dalam waktu 4-5 hari (Soedarmo dalam Mariaty, 2010).

Selama masa bertelur, seekor nyamuk betina mampu meletakkan 100-400 butir telur. Biasanya telur-telur tersebut diletakkan di bagian yang berdekatan dengan permukaan air. Telur menetas dalam waktu 1 sampai 3 hari pada suhu 30, tetapi membutuhkan 7 hari pada suhu 16°C dan telur tidak akan menetas sebelum digenangi

oleh air (Brown, 1979). Selanjutnya telur yang menetas akan menjadi larva dan posisi larva nyamuk tersebut berada dalam air.



Gambar 2.2 Telur *Aedes aegypti* L. perbesaran 600x (Sumber: Rangel, 2013)

b. Larva *Aedes aegypti* L.

Larva *Aedes aegypti* L. tubuhnya memanjang tanpa kaki dengan bulu-bulu sederhana yang tersusun secara bilateral simetris, berukuran $8 \times 4 \text{ mm}^2$, mempunyai pelana yang terbuka, bulu sifon satu pasang dan gigi sisir berduri lateral. Larva ini dalam pertumbuhan dan perkembangannya mengalami 4 kali pergantian kulit (*ecdysis*), dan larva yang terbentuk berturut-turut disebut larva instar I, II, III, dan IV (Soegijanto, 2004). Pada stadium larva nyamuk *Aedes aegypti* L. memiliki sistem saraf yang terdiri dari otak dan sepasang segmental ganglia, sedangkan jika didasarkan pada bagian-bagian tubuhnya dapat dibedakan menjadi beberapa bagian yaitu bagian *caput* (kepala), *thorax* (dada), dan *abdomen* (perut) (Rahmawati, 2004).

Menurut Marianti (2014) terdapat 4 tingkatan perkembangan (instar) larva *Aedes aegypti* L. didasarkan pada pertumbuhan larva yaitu.

- 1) Larva instar I: ukuran sekitar 1-2 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas, corong pernapasan belum jelas dan berlangsung 1-2 hari.
- 2) Larva instar II: ukuran 2,5-3,5 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas, corong pernapasan mulai menghitam dan berlangsung 2-3 hari.
- 3) Larva instar III: ukuran 4-5 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada mulai jelas, corong pernapasan berwarna coklat kehitaman, memiliki sifon yang gemuk, gigi sisir pada segmen ke-8, mengalami pergantian kulit dan berlangsung 3-4 hari.
- 4) Larva instar IV: ukuran 5-6 mm, warna kepala gelap corong pernapasan pendek dan gelap kontras dengan warna tubuhnya, setelah 2-3 hari akan mengalami pergantian kulit dan berubah menjadi pupa selama 2-3 hari.



Gambar 2.3 Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. instar IV perbesaran 100x (Sumber: Zettel and Kaufman, 2016)

Menurut Soegijanto (2004), kecepatan pertumbuhan dan perkembangan larva dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu temperatur, tempat, keadaan air dan kandungan zat makanan yang ada di dalam tempat perindukan.

c. Pupa *Aedes aegypti* L

Pupa merupakan fase inaktif yang mana mengharuskan fase sebelumnya untuk memaksimalkan dalam mencari nutrisi yang digunakan sebagai simpanan dalam tubuh karena adanya keterbatasan gerakan. Simpanan nutrisi akan dimanfaatkan pada saat berubah menjadi pupa karena fase pupa tidak memungkinkannya untuk bergerak mencari makan (Haditomo, 2010). Pupa hanya akan berusaha mencari oksigen untuk pernapasan dan kelangsungan hidupnya (Sayono, 2008)

Pupa *Aedes aegypti* L. memiliki bentuk seperti koma karena bentuknya yang bengkok dengan bagian *cephalotorax* lebih besar bila dibandingkan dengan bagian perutnya. Pada bagian ventral atau ruas perut yang ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang, yang mana merupakan hasil dari proses adaptasi (Supartha, 2008).

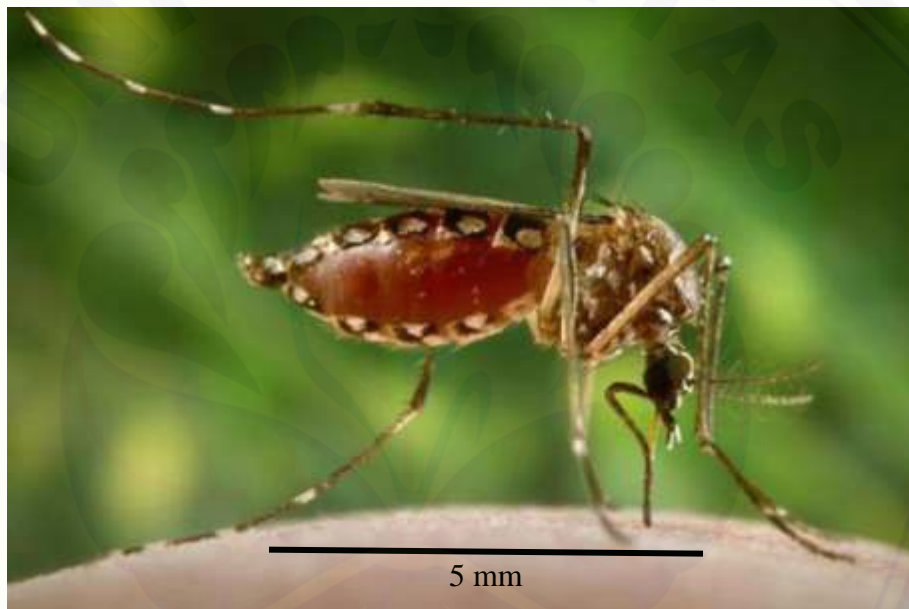


Gambar 2.4 Pupa nyamuk *Aedes aegypti* L. (Sumber: Zettel and Kaufman, 2016)

Pupa *Aedes aegypti* L. yang telah berusia sekitar 2,5 hari akan mengalami perkembangan yang selanjutnya menjadi fase imago. Imago *Aedes aegypti* L. yang telah sempurna keluar dari pupa, akan segera terbang menjadi *Aedes aegypti* L dewasa.

d. Imago *Aedes aegypti* L.

Nyamuk *Aedes aegypti* L. dewasa memiliki ukuran sedang dengan tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Di bagian punggung (*dorsal*) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari spesies ini (Womack, 1993).



Gambar 2.5 *Aedes aegypti* L. betina dewasa (sumber: Foto oleh James Gathany dalam Zettel and Kaufman, 2016, Center for Disease Control Public Health Image Library)

Nyamuk *Aedes aegypti* L. mempunyai tiga bagian tubuh, yaitu kepala (*cephal*), dada (*thoraks*), dan perut (*abdomen*). Badannya lonjong dengan panjang badan sekitar 5 mm. Warna tubuhnya hitam, mempunyai bercak-bercak dan garis-garis putih sehingga dijuluki sebagai *tiger mosquito* (Nurdian, 2003).

Kepala (*caput*) berbentuk seperti bola dan tertutup oleh sepasang mata faset dan tidak memiliki mata oselus dan mata biasa. Kepala nyamuk juga tersusun atas antenna yang panjangnya melebihi panjang dari pulpus maksila, alat mulut nyamuk betina tipe

penusuk penghisap sedangkan jantan bagian mulutnya lebih lemah sehingga tidak mampu menembus kulit manusia (Grantham dalam Kurniawati, 2003).

Dada (*thorax*) terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggungnya (*mesonotum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain. Gambaran punggung nyamuk *Aedes aegypti* L. berupa sepasang garis lengkung putih pada tepinya dan sepasang garis sub median di tengahnya. Pasangan kaki ada yang panjang dan pendek. Femur bersisik putih memanjang. Tibia semuanya hitam dan tarsi belakang berlingkaran putih pada segmen basal kesatu sampai keempat dan segmen kelima berwarna putih. Sayap berukuran 2,5-3,0 mm bersisik hitam (Sodarmono dalam Fajri, 2010).

Perut (*abdomen*) tersusun atas 8 segmen, segmen VIII nyamuk jantan lebar dan berbentuk kerucut sedang pada nyamuk betina segmen VIII agak meruncing dengan sersi menonjol (Fajri, 2010). Bentuk abdomen nyamuk betina lancip ujungnya dan memiliki cerci yang lebih panjang. Umur nyamuk jantan lebih pendek dari pada nyamuk betina, namun dapat terbang lebih jauh, rata-rata lama hidup nyamuk betina *Aedes aegypti* L. selama 10 hari pada habitat yang baik. Kondisi suhu yang baik untuk pertumbuhan nyamuk berkisar 29°C, dan akan mati apabila pada suhu 6°C selama 24 jam. Nyamuk dapat hidup pada suhu 7-9°C (Djunaedi, 2006).

2.2 Insektisida

Insektisida merupakan bahan kimia yang dapat membunuh serangga ataupun yang mampu mempengaruhi perilaku serangga, misalnya suatu bahan kimia yang mampu menarik atau menolak serangga tertentu (Gandahusada, 1998). Berdasarkan kandungan atau komposisi yang dimiliki serta cara kerja atau cara masuk kedalam tubuh hewan sasaran (*mode of entry*), insektisida dapat dibagi sebagai berikut.

a. Racun Kontak (*contact poisons*)

Racun kontak adalah insektisida yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui kulit, celah atau lubang alami pada tubuh atau langsung mengenai mulut serangga.

Apabila racun kontak bersinggungan langsung dengan tubuh serangga maka serangga akan langsung mati. Racun kontak ini masuk ke dalam tubuh hewan sasaran lewat kulit (kutikula) dan ditransportasikan ke bagian tubuh hewan tempat insektisida aktif bekerja, misalnya pada susunan saraf (Gandahusada, 1998).

b. Racun Perut (*stomach poision*)

Racun perut adalah insektisida yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui mulut, jadi syarat utama penggunaan jenis insektisida ini harus dimakan terlebih dahulu. Setelah masuk ke dalam mulut maka insektisida ini akan diserap oleh dinding saluran pencernaan makanan dan dibawa oleh cairan tubuh hewan ke tempat insektisida tersebut aktif (Gandahusada, 1998).

c. Racun Pernapasan (*fumigats*)

Racun pernapasan adalah jenis insektisida yang dapat masuk ke dalam tubuh dengan cara memasuki sistem pernapasan dalam bentuk gas ataupun butir-butir halus yang dibawa ke jaringan-jaringan hidup (Sastrodiharjo, 1984). Insektisida ini dapat digunakan untuk memberantas semua jenis serangga tanpa harus memperhatikan bentuk mulutnya. Racun pernapasan adalah insektisida yang mematikan hewan sasaran karena dapat mengganggu kerja organ pernapasan (misalnya menghentikan kerja otot yang mengatur pernapasan) sehingga hewan sasaran akan mati akibat tidak bisa bernapas (Djojsumarto, 2008).

Dalam pengendalian *Aedes aegypti* L. penggunaan insektisida kimia sangat menentukan, apalagi insektisida kimia seperti abate yang telah direkomendasikan oleh WHO sejak 1967. Kemampuan abate dalam memberantas larva nyamuk ini, dikarenakan terdapat kandungan senyawa aktif kimia seperti, seperti *Tetramethyl Thiodi. PPhenylene, Phosphorothioate* 1% dan *inert ingredient* 99% (Ponlawat, 2005).

Paparan pestisida yang terus menerus dapat menyebabkan nyamuk beradaptasi sehingga jumlah nyamuk yang kebal bertambah banyak. Nyamuk yang kebal tersebut dapat membawa sifat resistensinya ke keturunannya. Selain itu nyamuk yang sudah

kebal terhadap satu jenis insektisida tertentu akan terus mengembangkan diri agar bisa kebal terhadap jenis insektisida yang lain (Daniel, 2010). Hal ini telah terjadi pula terhadap insektisida kimia seperti abate, yang mana frekuensi penggunaan terlalu sering dari tahun 1967 hingga sekarang telah mengakibatkan respon alami pada *Aedes aegypti* L. yaitu resistensi. Laporan mengenai resistensi larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terhadap abate sudah terjadi di beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Venezuela, Kuba, French, Polynesia, Karibia, dan Thailand (Gafur, 2006).

Penggunaan insektisida kimia seperti abate memang dapat menekan populasi larva dengan baik. Namun dapat menimbulkan resistensi larva, pencemaran lingkungan, keracunan dan kematian hewan bukan sasaran. WHO sejak tahun 1985 telah menganjurkan untuk mencari terobosan baru dalam pengendalian hayati atau pengendalian lingkungan. Salah satunya adalah penggunaan insektisida nabati yang berasal dari tumbuhan (Aulung, 2010).

Insektisida botani atau nabati merupakan insektisida yang senyawa-senyawa aktifnya berasal dari tumbuhan, insektisida nabati relatif mudah dibuat, mudah terurai dan relatif aman bagi manusia dan hewan ternak (Kardinan, 2003). Menurut Subiyakto dalam Diana (2004), Insektisida nabati dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan serangga dengan berbagai macam cara, seperti menghambat perkembangan-perkembangan telur, larva dan pupa, menghambat perkembangan kulit pada stadium larva, penolak makan, meracuni larva dan mengurangi nafsu makan atau memblokir kemampuan makan serangga.

2.3 Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Srikaya merupakan tumbuhan yang biasanya tumbuh di daerah tropik pada ketinggian sampai 1.000 mdpl, dan memiliki sifat tanaman tahan kekeringan. Srikaya dapat tumbuh pada tanah berpasir sampai tanah lempung berpasir dengan sistem drainase yang baik pada pH 5,5-7,4 (Widodo, 2010).

Tanaman srikaya berbentuk semak sampai pohon. Tingginya dapat mencapai 6 meter dengan umur hingga 20 tahun. Buah pada tanaman srikaya merupakan buah yang bertumpuk menjadi bakal buah yang berbentuk bulat telur seperti ginjal. Buah tersebut terdiri dari beberapa segmen yang bersatu (agregat) yang membentuk buah semu (*pseudocarp*) (Sunarjono, 2005)

Biji srikaya berbentuk *ellipsoid*, berwarna coklat kehitaman dan keras. Biji srikaya mengandung banyak minyak yang digunakan sebagai insektisida. Biji-bijian ini 33 dikelilingi daging yang dapat dimakan. Satu buah srikaya mengandung 10-50 biji. Dalam satu biji memiliki berat 5-18 gram (Suwahyono, 2013).



Gambar 2.6 Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) (sumber: Adeniji *et al.*, 2014)

2.3.1 Klasifikasi Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari tanaman srikaya adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Super division	: Embryophyta

Division : Tracheophyta
Subdivision : Spermatophytina
Class : Magnoliopsida
Suborder : Magnolianaes
Order : Magnoliales
Family : Annonaceae
Genus : Annona
Species : *Annona squamosa* L.
(ITIS, 2011).

2.3.2 Kandungan biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

Kandungan senyawa kimia biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) salah satunya adalah alkaloid. Alkaloid adalah metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan tanaman dan mampu menyebabkan kematian serangga melalui mekanisme racun kontak dan racun perut serta mudah mengalami penguraian jika disimpan dalam waktu lama (Widodo, 2010). Menurut Wardhana (2005), biji srikaya mengandung senyawa bioaktif yang terdapat didalam ekstrak biji srikaya, yaitu annonain dan skuamosin yang termasuk dalam golongan asetogenin (*Annonaceous acetogenins*). Senyawa tersebut telah banyak diteliti dan dilaporkan bersifat sebagai insektisida, akarisida, antiparasit dan bakterisida.

Biji srikaya juga mengandung senyawa poliketida dan suatu senyawa turunan bistetrahidrofurana, asetogenin (skuamostatin C, D, anonain, anonasin A, anonin 1, IV, VI, VIII, IX, XVI, skuarnostatin A, bulatasin, bulatasion, skuamon, neo desatilularisin, neo retikulasin A, skuamosten A, asimisin, skuamosin, sanonasin, anonastatin, neo anonin (Rustanti, 2007).

Biji srikaya selain mengandung bahan aktif diatas, juga mengandung minyak yang tersusun atas metil palmitat, metil stearate, dan metil linoleate. Metil palmitat merupakan senyawa terbaik yang digunakan sebagai bahan baku untuk produksi

surfaktan MES (Metil Ester Sulfonat). Produk ini dapat digunakan sebagai bahan aktif pada produk pencuci dan pembersih karena mempunyai daya deterjensi yang terbaik (Suryani *et al.*, 2010).

Metil palmitat memang memiliki daya deterjensi yang baik, namun senyawa lain yaitu metil linoleat memiliki fungsi sebagai anti kanker sehingga dapat digunakan sebagai obat (Widodo, 2010). Pada umumnya sifat racun yang dihasilkan dari tumbuhan family annonaceae memiliki tingkat residu racun yang mudah hilang dalam waktu dua hari lebih kurang 48 jam setelah digunakan (Morton, 1987).

2.4 Pepaya (*Carica papaya L.*)

Carica papaya L. atau *Caricaceae* merupakan tanaman buah yang berasal dari Meksiko Selatan dan Amerika Tengah. Nama umum dari tanaman buah ini adalah pepaya (Indonesia), Papaw (Australia), dan Mamao (Brazil). Tanaman pepaya dapat tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Selain itu, tanaman pepaya dapat berbuah kapan saja dan tidak mengenal musim. Pepaya adalah tanaman yang besar dan berumur pendek, cepat tumbuh, berkayu dan tingginya sekitar 10 sampai 12 meter. Tanaman pepaya dapat bercabang apabila terdapat luka batangnya. Semua bagian tanaman mengandung lateks. Batang tanaman berongga ungu hijau, dalam, dan mempunyai diameter sekitar 2 sampai 3 inci (Anton, 2011).

Pepaya merupakan tanaman berbatang tunggal dan tumbuh tegak. Batang tidak berkayu, silindris, berongga dan berwarna putih kehijauan. Tinggi tanaman berkisar antara 5-10 meter, dengan perakaran yang kuat. Tanaman pepaya tidak mempunyai percabangan. Daun tersusun spiral menutupi ujung pohon. Daunnya termasuk tunggal, bulat, ujung mruncing, pangkal bertoreh, tepi bergerigi, berdiameter 25-55cm. Daun pepaya berwarna hijau, helaian daun menyerupai telapak tangan manusia. Bunga pepaya berwarna putih dan berbentuk seperti lilin, berdasarkan keberadaan bunganya, pepaya termasuk monodioecious yaitu berumah tunggal (Muktiani, 2011).

Buah pepaya memiliki daging buah, bentuknya seperti bola ke bulat telur atau panjang dan silinder. Buah ini memiliki rongga ovarium sentral yang mengandung banyak biji hitam. Biji berisi, embrio lateral yang rata dan kecil dengan kotiledon berbentuk bulat telur dikelilingi oleh endosperm yang berdaging. Kulit biji pepaya keras, endotesta berwarna coklat gelap dan sarcotesta tidak berwarna atau bening (Kew, 2016).



Photo: Suzy Wood; © Board of Trustees RBG Kew - All rights reserved

Gambar 2.7 Biji pepaya (sumber: RBG Kew, 2016).

2.4.1 Klasifikasi pepaya (*Carica papaya* L.)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari tanaman pepaya adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Super division	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Super Ordo	: Rosanae

Ordo : Brassicales
Family : Caricaceae
Genus : *Carica*
Species : *Carica papaya* L.
(ITIS, 2011).

2.4.2 Kandungan biji pepaya (*Carica papaya* L.)

Biji pepaya biasanya dimanfaatkan sebagai larvasida botani karena memiliki kandungan alkaloid carpain yang bersifat toksik terhadap larva bahkan dapat menyebabkan kematian larva, disamping itu juga terdapat kandungan papain yang bersifat proteolitik dan menghambat hormon pertumbuhan larva (Utomo, 2010). Biji pepaya mengandung alkaloid, Karpain, nikotin, flavonol, tanin, dan terpinenes serta enzim seperti papain dan chymopapain (Adeneye dan Olagunju, 2009).

Selain itu biji pepaya juga mengandung asam lemak, protein, serat, minyak, karpain, *benzylisothiocynate*, *benzylglucosinolate*, *glucotropacolin*, *benzylthio-urea*, *hentriacontane*, β -*sistosterol*, *caricin* dan enzim *nyrosin* (Yogiraj, *et al.*, 2014). Alkaloid karpain dan enzim papain dapat masuk ke dalam tubuh larva melalui dinding tubuh dengan cara osmosis karena kulit atau dinding tubuh bersifat permeabel, kemudian alkaloid karpain dan enzim papain menyebar ke seluruh tubuh dan menyerang sistem saraf sehingga dapat mengganggu aktivitas larva (Astarsari, 2015).

2.5 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sedangkan ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan

tanpa melarutkan material lainnya atau ekstraksi merupakan metode yang dapat digunakan untuk menghasilkan ekstrak (Taslimah, 2004).

Ada beberapa tahapan ekstraksi, salah satunya adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari, yang mana cairan penyari nantinya akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan larut. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Rendaman tersebut disimpan dan terlindung dari cahaya matahari langsung. Waktu maserasi pada umumnya 5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang direaksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai (David, 2007).

Proses pengocokan atau pengadukan dilakukan untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi agar lebih cepat dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Setelah dilakukan maserasi, selanjutnya campuran disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat dari hasil penyaringan masing-masing pelarut kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu yang telah ditentukan sesuai titik didih dari setiap pelarut (biasanya dalam suhu kamar) agar kandungan senyawa pada ekstrak tidak rusak (David, 2007).

2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.8 Bagan Kerangka Teori

2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

- a. Besarnya toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam berkisar 35 ppm sampai dengan 45 ppm
- b. Toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam lebih tinggi dibandingkan dengan toksisitas ekstrak tunggalnya.
- c. Toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam bersifat sinergis.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian uji toksisitas campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) adalah jenis penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) serta Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember untuk pemeliharaan larva nyamuk dan uji hayati. Penelitian ini dimulai pada bulan Mei 2016.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.).

3.3.2 Variabel terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada stadium larva instar III akhir hingga instar IV awal dalam waktu dedah 24 jam.

3.3.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu larva uji dengan fase larva instar III akhir sampai dengan instar IV awal, aquades, waktu pengujian dan lingkungan laboratorium (suhu dan kelembapan).

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah selep untuk membuat serbuk biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.), gelas beaker, pipet tetes, toples, *rotary evaporator* untuk mengekstraksi biji srikaya dan biji pepaya, neraca ohaus, ember dan gelas plastik.

3.4.2 Bahan Penelitian

- a. Biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang akan dibuat dalam bentuk ekstrak
- b. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar III akhir sampai IV awal
- c. Etanol 97%, untuk maserasi ekstrak biji srikaya dan biji pepaya
- d. Kertas saring untuk menyaring hasil maserasi biji srikaya dan biji pepaya
- e. Air
- f. Pakan ikan takari.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional bertujuan untuk memperjelas gambaran tentang judul penelitian. Peneliti memberikan pengertian untuk menjelaskan operasional variabel penelitian agar tidak menimbulkan makna ganda sebagai berikut.

- a. Toksisitas adalah derajat efek toksik atau sifat racun suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat (24 jam) setelah pemberiannya dalam dosis tunggal atau campuran yang mana tingkat toksisitas dapat dilihat dari besarnya *Lethal concentration 50* (LC₅₀ adalah konsentrasi dari masing-masing ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% dari populasi larva *Aedes aegypti* L yang diujikan).
- b. Ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) merupakan sediaan pekat yang berasal dari biji srikaya yang masih bagus dan tidak berjamur dengan mengekstraksi senyawa aktifnya menggunakan pelarut etanol 97% kemudian semua atau hampir semua

- pelarut didestilasi uap dengan *rotary evaporator* hingga menjadi sediaan ekstrak padat.
- c. Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan sediaan pekat yang berasal dari biji pepaya yang masih bagus dan tidak berjamur dengan mengekstraksi senyawa aktifnya menggunakan pelarut etanol 97% kemudian semua atau hampir semua pelarut didestilasi uap hingga menjadi sediaan ekstrak padat.
 - d. Ekstrak campuran adalah campuran antara ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan perbandingan 1:1.
 - e. Mortalitas adalah banyaknya angka kematian pada populasi larva *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam yang ditandai dengan kriteria sebagai berikut.
 - 1) Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang berada di permukaan air atau di dasar air.
 - 2) Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tidak memberikan respon setelah disentuh dengan lidi.
 - 3) Secara kimia bila larva nyamuk *Aedes aegypti* L. ditetesi iodine berwarna transparan karena sel-sel tubuh yang telah mati tidak dapat menyerap warna.
 - f. Larva *Aedes aegypti* L. instar III akhir dan IV awal adalah serangga pradewasa dari nyamuk *Aedes aegypti* L. yang merupakan fase aktif makan dan bergerak dalam siklus hidup serangga, dimana yang menjadi makanannya adalah bahan-bahan organik terlarut dalam air dan mikroorganisme lainnya.

3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel

Jumlah dan kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Sampel yang digunakan dalam penelitian yaitu larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dibiakkan di Laboratorium Toksikologi dan Parasitologi Pendidikan Biologi Universitas Jember. Larva nyamuk *Aedes aegypti* L. stadium akhir instar III sampai awal instar IV. Pengambilan sampel penelitian dengan cara menghomogenkan dari larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akhir instar III sampai awal instar IV dengan dilakukan identifikasi sifon (alat pernapasan tampak berwarna hitam).

- b. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian 1200-1500 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* L. untuk uji pendahuluan sebanyak 100 larva nyamuk dan uji akhir menggunakan 1500 larva. Setiap perlakuan uji menggunakan 20 ekor larva uji.

3.7 Desain Penelitian

3.7.1 Desain Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang mampu membunuh 5% larva uji dan kematian 95% larva uji sehingga mampu digunakan untuk menentukan serial konsentrasi yang akan digunakan pada pengujian akhir. Pada uji pendahuluan digunakan sebanyak 20 larva pada tiap ujinya tanpa dilakukan pengulangan. Penentuan konsentrasi awal, dilakukan dengan menggunakan konsentrasi yang paling kecil hingga sedikit tinggi untuk mendapatkan larva yang mati 1 dan mati 20 dari 20 larva uji.

Berdasarkan uji pendahuluan, diketahui bahwa konsentrasi 10 ppm ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) didapatkan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. sebanyak 5%, dan pada 250 ppm didapatkan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. sebanyak 95%. Konsentrasi 1000 ppm pada ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. sebanyak 5% dan pada 7500 ppm jumlah kematian sebanyak 95%. Pada uji campuran antara kedua ekstrak tersebut, sebesar 1 ppm didapatkan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. sebesar 5% dan 125 ppm jumlah kematian larva sebanyak 95%.

3.7.2 Desain Uji Akhir

Desain penelitian ini menggunakan rancang acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 kali ulangan yang terdiri dari 4 perlakuan, masing-masing menggunakan 20 ekor larva *Aedes aegypti* L. dalam masa dedah 24 jam.

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam masa dedah 24 jam

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)			
	Konsentrasi (Perbandingan 1:1)			
	1	2	3	4
EC1	EC1U1	EC1U2	EC1U3	EC1U4
EC2	EC2U1	EC2U1	EC2U3	EC2U4
EC3	EC3U1	EC3U2	EC3U3	EC3U4
EC4	EC4U1	EC4U2	EC4U3	EC4U4
EC5	EC5U1	EC5U2	EC5U3	EC5U4
EC6	EC6U1	EC6U2	EC6U3	EC6U4
EC7	EC7U1	EC7U2	EC7U3	EC7U4

Keterangan:

EC1: Konsentrasi campuran 1 ppm

EC2: Konsentrasi campuran 5 ppm

EC3: Konsentrasi campuran 25 ppm

EC4: Konsentrasi campuran 50 ppm.

EC5: Konsentrasi campuran 75 ppm.

EC6: Konsentrasi campuran 100 ppm.

EC7: Konsentrasi campuran 125 ppm.

U: Ulangan

Serial konsentrasi yang digunakan pada hasil uji akhir, didasarkan atas hasil uji pendahuluan yang menunjukkan bahwa konsentrasi yang mampu membunuh 5% larva uji adalah 1 ppm dan yang mampu membunuh 95% larva uji adalah 125 ppm.

Tabel 3.2 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam masa dedah 24 jam.

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)			
	1	2	3	4
ES1	ES1U1	ES1U2	ES1U3	ES1U4
ES2	ES2U1	ES2U2	ES2U3	ES2U4
ES3	ES3U1	ES3U2	ES3U3	ES3U4
ES4	ES4U1	ES4U2	ES4U3	ES4U4
ES5	ES5U1	ES5U2	ES5U3	ES5U4
ES6	ES6U1	ES6U2	ES6U3	ES6U4

Keterangan

ES1: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 10 ppm

ES2: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 50 ppm

ES3: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 100 ppm

ES4: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 150 ppm

ES5: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 200 ppm

ES6: Konsentrasi ekstrak biji srikaya 250 ppm

U: Ulangan

Tabel 3.3 Rancangan Penelitian Uji Akhir Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Mortalitas Larva nyamuk (*Aedes aegypti* L.) dalam masa dedah 24 jam

Perlakuan	Mortalitas Larva (%)			
	1	2	3	4
EP1	EP1U1	EP1U2	EP1U3	EP1U4
EP2	EP2U1	EP2U2	EP2U3	EP2U4
EP3	EP3U1	EP3U2	EP3U3	EP3U4
EP4	EP4U1	EP4U2	EP4U3	EP4U4
EP5	EP5U1	EP5U2	EP5U3	EP5U4
EP6	EP6U1	EP6U2	EP6U3	EP6U4

Keterangan:

EP1: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 1000 ppm

EP2: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 2000 ppm

EP3: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 3500 ppm

EP4: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 5500 ppm

EP5: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 7000 ppm

EP6: Konsentrasi ekstrak biji pepaya 8000 ppm

U: Ulangan

3.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dalam 3 tahap yaitu, tahap persiapan, tahap uji pendahuluan, dan tahap pengujian akhir.

3.8.1 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan yang dilakukan sebelum melaksanakan penelitian meliputi.

a. Tahap Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat bertujuan untuk mensterilkan semua peralatan agar terbebas dari sisa-sisa bahan kimia dan mikroorganisme lainnya dan proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan sabun cair untuk membersihkan semua peralatan sedangkan alkohol untuk mensterilkan meja tempat untuk penelitian.

b. Persiapan Larva Uji

Pada tahap persiapan larva uji dilakukan tahap pemeliharaan dan tahap identifikasi larva uji yang dijelaskan sebagai berikut.

1) Tahap Pemeliharaan

Tahap pemeliharaan dapat dijelaskan sebagai berikut, yaitu:

- a) Larva diberi pakan ikan Takari setiap harinya dengan menghaluskan 6 butir pakan dengan mortal. Pemberian pakan dilakukan dengan menaburkan pada bagian pojok-pojok loyang untuk menjaga salinitas air dalam loyang.
- b) Tiap hari dilakukan pengamatan terhadap proses pergantian kulitnya sehingga dapat ditentukan stadium larvanya dengan menghilangkan lapisan yang terbentuk dibagian permukaan air dalam loyang dengan menggunakan pipet dan kertas saring. Kegiatan ini dilakukan setiap hari sebelum pemberian makanan larva.
- c) Larva dipelihara sampai instar III akhir IV awal dan siap digunakan sebagai larva uji.
- d) Larva yang digunakan sebagai larva uji adalah larva yang terseleksi dan homogen pada stadium larva instar III akhir IV awal dengan kriteria sehat dilihat dengan gerakannya yang lincah.

2) Tahap Identifikasi Larva Uji

Tahap identifikasi larva uji dilakukan melalui pengamatan secara makroskopis yakni dengan mengamati fase istirahat larva dan secara mikroskopis yakni dengan melihat morfologi larva meliputi warna bentuk, ukuran dan duri-duri lateral dengan perbesaran 100 kali.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)

Tahap pembuatan ekstrak biji pepaya dan biji srikaya diawali dengan persiapan pemilihan biji srikaya dengan cara memilih biji yang tidak rusak dan tidak berjamur. Pembuatan dari dua bahan tersebut kurang lebih sama. Pembuatan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) dijelaskan sebagai berikut.

- 1) Mencari biji srikaya dan biji pepaya, kemudian di sortir untuk mencari biji yang tidak rusak dan berjamur. Setelah itu ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat basahnya.
- 2) Dikeringanginkan selama 7 hari sampai benar-benar kering (tidak ada kandungan air), setelah itu di oven untuk memastikan benar-benar kering selama 2-3 jam. Kemudian diselep menggunakan alat selep hingga menjadi serbuk.
- 3) Menimbang serbuk sebanyak 150 gram dan memasukkan ke dalam gelas erlenmeyer. Kemudian ditambahkan etanol 97% sebanyak 600 ml, diaduk sampai homogen dengan menggunakan spatula dan ditutup dengan alumunium foil.
- 4) Gelas erlenmeyer yang berisi larutan srikaya atau pepaya tersebut dimasukkan dalam toples untuk dimaserasi selama 3 hari.
- 5) Hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong *Buchner* yang dialasi dengan kertas saring agar endapan biji srikaya dan biji pepaya tidak ikut kembali.
- 6) Hasil saringan diatas kemudian dimasukkan dalam labu destilasi dan dirangkai sedemikian rupa pada alat *rotary evaporator* untuk memisahkan etanol dengan ekstrak sehingga dihasilkan ekstrak biji srikaya murni atau ekstrak pepaya murni. Mengatur suhu 50⁰C dan 150 rpm (Rotasi Per Menit), dan menunggu selama kurang lebih 3 jam untuk menguapkan ethanol 97% tadi.
- 7) Ekstrak yang telah berhasil dibuat di pindahkan dalam gelas beaker 100 ml dan dibungkus dengan alumunium foil dan disimpan di dalam lemari es yang siap digunakan sebagai larvasida.

3.8.3 Tahap Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh konsentrasi campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) yang dapat membunuh larva *Aedes aegypti* L. sebesar 5% dan 95% dari jumlah larva uji. Uji ini dilakukan tanpa ulangan dan hasilnya tidak dianalisis.

Tahap uji pendahuluan dilakukan 3 uji, uji dengan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.), uji dengan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan uji campuran antara ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) Langkah kerja uji pendahuluan sebagai berikut.

a. Uji ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- 1) Mengisi 4 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 4 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90 ml (telah ditambahkan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) yang konsentrasinya dikondisikan tetap 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10 ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.
- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- 4) Mencatat jumlah larva yang mati.

b. Uji ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.)

- 1) Mengisi 6 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 6 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90 ml (telah ditambahkan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang konsentrasinya

dikondisikan tetap 1500 ppm, 2500 ppm, 4000 ppm, 5000 ppm, 6000 ppm dan 7.500 ppm walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.

- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuhkan batang lidi dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- 4) Mencatat jumlah larva yang mati.

c. Uji ekstrak campuran biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji papaya (*Carica papaya* L.)

- 1) Mengisi 5 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 5 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90 ml (telah ditambahkan campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji papaya (*Carica papaya* L.) yang konsentrasinya dikondisikan tetap 5 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm, walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10 ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.
- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuhkan batang lidi dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- 4) Mencatat jumlah larva yang mati.

3.8.4 Tahap uji akhir

Pada tahap uji akhir ditentukan beberapa macam konsentrasi yang akan digunakan dengan melihat pada hasil uji pendahuluan. Data yang akan di dapat dari uji akhir nantinya akan dilakukan analisis. Pada uji akhir ini menggunakan larva dengan jumlah 20 ekor dan juga dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

Langkah kerja uji akhir adalah sebagai berikut.

a. Uji akhir campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.)

- 1) Mengisi 28 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 28 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90ml (telah ditambahkan campuran ekstrak biji srikaya dan biji pepaya perbandingan 1:1 yang konsentrasinya dikondisikan tetap 1 ppm, 5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm, walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10 ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.
- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- 4) Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC_{50} menggunakan analisis Probit.

b. Uji akhir ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.)

- 1) Mengisi 24 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 24 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90 ml (telah ditambahkan ekstrak biji srikaya yang konsentrasinya dikondisikan tetap 10 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm, walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10 ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.
- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.

- 4) Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC_{50} menggunakan analisis Probit.

c. Uji akhir ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.)

- 1) Mengisi 24 gelas aqua dengan air sebanyak 90 ml dan 24 gelas aqua dengan air sebanyak 10 ml.
- 2) Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam gelas aqua yang berisi air 10 ml, lalu campurkan dengan gelas aqua yang berisi air 90 ml (telah ditambahkan ekstrak biji pepaya yang konsentrasinya dikondisikan tetap 1000 ppm, 2000 ppm, dan 3500 ppm, 5500 ppm, 7000 ppm, dan 8000 ppm, walaupun nantinya ditambahkan dengan air 10 ml), kemudian ditutup dengan menggunakan kain sifon.
- 3) Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.
- 4) Mencatat jumlah larva yang mati dan menentukan LC_{50} menggunakan analisis Probit.

3.9 Analisis Data

Terdapat beberapa hal yang dianalisis dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Untuk mengetahui persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. akibat toksisitas campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) dihitung dengan menggunakan rumus Abbot.

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

- b. Menentukan nilai LC_{50} dari campuran ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) serta ekstrak tunggal menggunakan analisis probit dengan software yang digunakan adalah *Minitab 17 for Windows*.

c. Rumus Indeks Kombinasi (IK)

$$IK = \frac{LCx^{1(cm)}}{LCx^1} + \frac{LCx^{2(cm)}}{LCx^2} + \left(\frac{LCx^{1(cm)}}{LCx^1} \times \frac{LCx^{2(cm)}}{LCx^2} \right)$$

Keterangan:

IK : Indeks kombinasi

LCx^{1(cm)} :Letal Konsentrasi X Campuran Ekstrak pada ekstrak tunggal pertamaLCx^{2(cm)} :Letal Konsentrasi X Campuran Ekstrak pada ekstrak tunggal pertamaLCx¹ :Letal konsentrasi x ekstrak tunggal pertama pada campuran ekstrakLCx² :Letal konsentrasi x ekstrak tunggal kedua pada campuran ekstrak

Kategori sifat interaksi campuran tersebut didasarkan pada Chou dan Martin (2005) yang menyatakan bahwa bila indeks kombinasi atau $IK < 0,1$ maka sifat aktivitas campuran bersifat sinergis sangat kuat, rentang 0,1-0,3 bersifat sinergis kuat, rentang 0,3-0,7 bersifat sinergis, rentang 0,7-0,85 bersifat sinergis sedang, rentang 0,85-0,9 bersifat sinergis rendah, rentang 0,9-1,1 bersifat aditif, rentang 1,1-1,2 bersifat antagonis rendah, rentang 1,2-1,45 bersifat antagonis sedang, rentang 1,45-3,3 bersifat antagonis, rentang 3,3-10 bersifat sangat antagonis, dan >10 bersifat antagonis sangat kuat.

d. Rumu Indeks Toksisitas

Indeks Toksisitas Aktua(ITA) dengan ekstrak tunggal pertama sebagai acuan

$$= \frac{LCx^{AS}}{LCx^{CM}} \times 100$$

Indeks Tosksisitas Teoritis (ITT)

$$= \left(\frac{LCx^{AS}}{LCx^{CM}} \times 100\% \right) \times \%AS \text{ pada CM} + \left(\frac{LCx^{BS}}{LCx^{CM}} \times 100\% \right) \times \%B \text{ pada CM}$$

$$\text{Koefisien Indeks Toksisitas(K-IT)} = \frac{\text{Indeks Toksisitas Aktual(ITA)}}{\text{Indeks Toksisitas Teoritis(ITT)}} \times 100$$

Keterangan:

LCx^{AS} : Letal konsentrasi x dengan ekstrak tunggal pertama sebagai acuan standar

LCx^{cm} : Letal konsentrasi x pada campuran ekstrak

LCx^{BS} : Letal konsentrasi x dengan ekstrak tunggal kedua sebagai acuan standar

%AS pada CM : Prosentase proporsi perbandingan ekstrak tunggal pertama pada campuran

%BS pada CM : Prosentase proporsi perbandingan ekstrak tunggal kedua pada campuran

Rumus dan rentang tersebut diperoleh dari Sun dan Johnson (dalam Manal *et al.* 2016), yang mana jika nilai koefisien indeks toksisitas <100 bersifat *Independent action*, dan jika nilai koefisien indeks toksisitas >100 bersifat *synergistic action*, dan jika nilai tersebut sama dengan 100, maka campuran ekstrak tersebut bersifat *similiar action*. Selain 2 rumus tersebut masih ada cara sederhana dalam menentukan katagorisasi sifat campuran secara sederhana, yaitu dengan menghitung nilai faktor sinergisnya.

e. Rumus Faktor Sinergis

$$Faktor\ Sinergis = \frac{LCx^{(CM)}}{LCx^T}$$

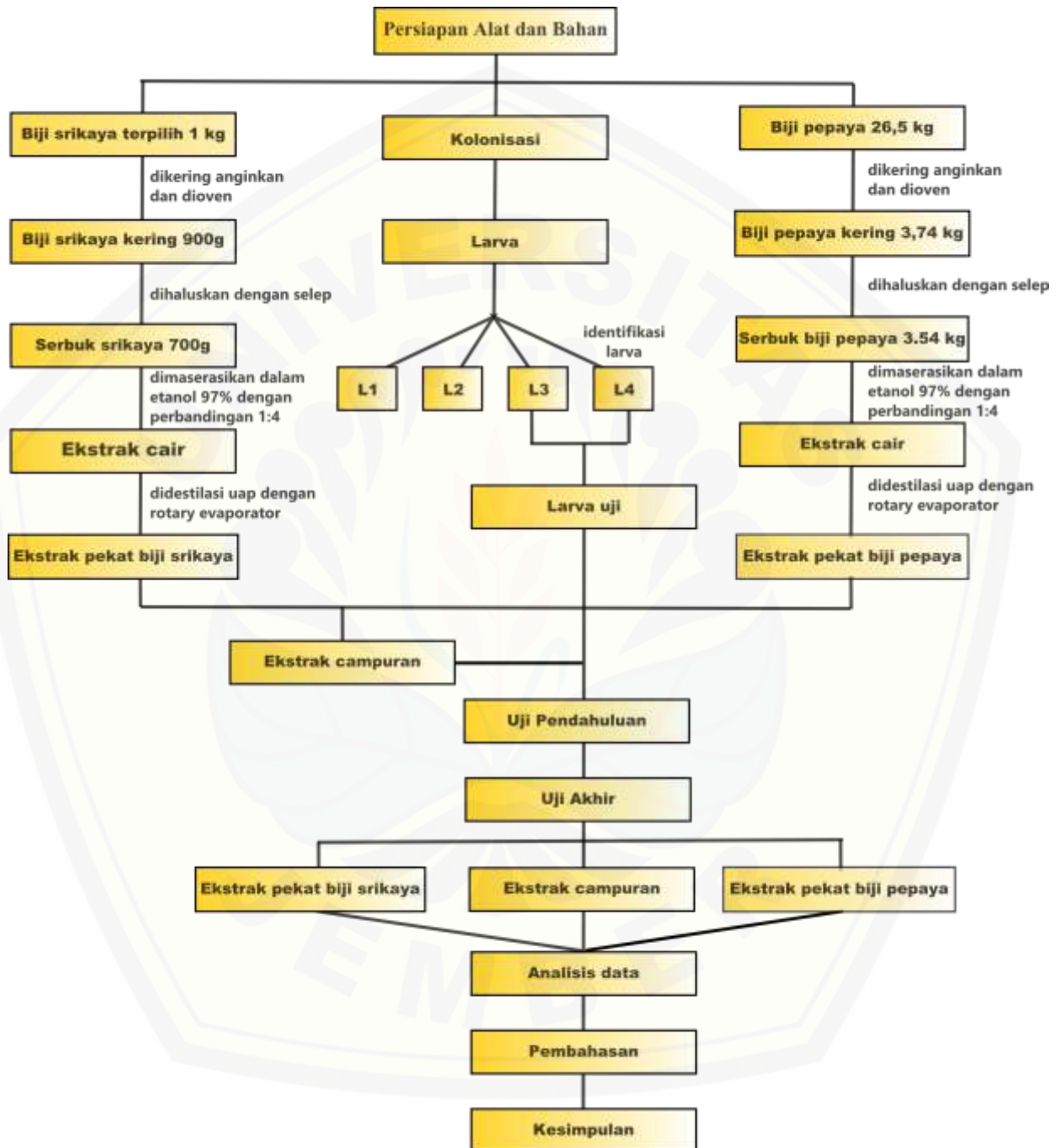
Keterangan:

LCx^{Cm} : Letal konsentrasi x pada campuran ekstrak

LCx^T : Letal Konsentrasi x pada ekstrak tunggal

Rentang sinergis dapat dilihat jika hasil perhitungan lebih dari 1 dan antagonis jika hasil perhitungan kurang dari 1. Rumus dan katagori rentang ini didasarkan oleh Kalyanasandaram, Babu dan Das (dalam Araka *et al.* 2013).

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dan terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Besarnya LC₅₀ campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam adalah 42,0129 ppm.
- b. Besarnya toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal, yang memiliki nilai LC₅₀ sebesar 4144,27 ppm (ekstrak biji pepaya) dan 113,271 ppm (ekstrak biji srikaya).
- c. Toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam bersifat sinergis dengan nilai Indeks Kombination (IK) sebesar 0.38.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi perbandingan antara ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan biji srikaya (*Annona squamosa* L.).
- b. Perlu ditambahkan kontrol positif dengan menggunakan abate dan kontrol negatif dengan menggunakan Twin 80% jika nantinya akan dilakukan penelitian lanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeneye, AA., Olagunju, JA. 2009. Preliminary hypoglycemic and hypolipidemic activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in Wistar rats. *Biology and Medicine*. Vol. 1(1): 1-10.
- Adeniji I.T, Adio A.F., Iroko O.A., Kareem A.A., Jegede O.C., Kazeem-Ibrahim F, Adewole T.O., Adeosun A.O. 2014. Pre-Treatment of Seeds of *Annona Squamosa* (Sugar Apple) A Non Timber Forest Product. *Science and Education Publishing*. Vol. 2(3): 50-52.
- Adifian, H. Isyak dan R.I. Ane. 2013. Kemampuan Adaptasi Nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* dalam Culicidae Berkembang Biak Berdasarkan Jenis Air. *Jurnal Bagian Kesehatan Lingkungan*.
- Ambarwati, I.A. 2014. Toksisitas Ekstrak Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dan Pemanfaatannya sebagai Karya Ilmiah Populer. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Araka, G., Ochora, J., Wakhisi, J., Tolo, F., & Otsyula. Larvicidal and Synergistic Activities of Crude Leaf Extracts of *Pyrethrum* (Chrysanthemum), *Eucalyptus camaldulensis* Sm. (Myrtaceae) and *Nicotiana tabaccum* (Tobacco) against the Larvae of the Malaria Vector *Anopheles gambiae* s.s. Giles (Diptera). *International Journal of Science and Research (IJSR)*. Vol.6(14): 48-56.
- Astasari, R., Santoso, L.M., dan Riyanto. 2015. Pengaruh Penggunaan Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya* Linn.) Sebagai Larvasida Nabati terhadap *Aedes albopictu* Dan Sumbangannya pada Pelajaran Biologi SMA. *Pembelajaran Biologi*. Vol. 2 (1): 109-120.
- Aulung, A., Christian, dan Ciptaningsih. 2010. Daya Larvasida Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. *Majalah Kedokteran FK UKI*. 28(1).
- Brown, H.W. 1979. *Dasar Parasitologi Klinis (Edisi Ketiga)*. Terjemahan oleh Rukmono. Jakarta: PT Gramedia.

- Chou, J. T., Chou, T. C., Talalay, P. 1984. Conservation of Laboratory Animals by Improved Experimental Design, Generalized Equations and Computer Analysis, *Fed Proc* 43:576.
- Chou and Martin. 2005. CompuSyn for Drug Combinations: PC Software and User's Guide A Computer Program for Quantitation of Synergism an Antagonism in Drug Combinations, and The Determinations of LC50, ED50, and LD50 Values, ComboSyn, Paramus, NJ.
- Dadang, I, N., dan Ohsawa, K. 2007. Ketahanan dan Pengaruh Fitotoksik Campuran Ekstrak *Piper retrofractum* dan *Annona squamosa* pada Pengujian Semi Lapangan. *JHPT Trop.* 7(2):91-99.
- Daniel, 2010. Ketika Larva Nyamuk Dewasa Sudah Kebal terhadap Insektisida. Racikan Khusus vol. 7 (7). http://www.majalahfarmacia.com/rubrik/one_news_print.asp?IDNews=643. [10 Maret 2016].
- David, G. 2007. *Analisis Farmasi Edisi 2*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dewi, D.P. 2014. Toksisitas Granula Ekstra Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Skrripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Diana, A. 2008. *Kajian Beberapa Insektisida nabati terhadap Mortalitas Hama Ulat Tebu (Anomala viridis F)*. Jember: Universitas Jember.
- Diana, W. 2009. *Dampak Negatif Penggunaan Pestisida di Lingkungan*. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/1106/1/fp-diana.pdf>. [19 Maret 2015].
- Djojosemarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta Selatan: PT Agromedia Pustaka.
- Djunaedi, D. 2006. *Demam Berdarah (dengue DBD). Epidemiologi, Immunopatologi, Patogenesis, Diagnosis dan Penatalaksanaannya*. Malang: UMM Press.
- Fajri, S. 2010. Toksisitas ekstrak Alpukat (*Persea Americana* Mill.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skrripsi*. Jember: Universitas jember.
- Felix. 2008. Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal terhadap Insektisida. *FARMACIA*. Vol. 7(7).

- Francis, G. Kerem, Z. Makkar, H. P. S. Becker, K. 2002. The Biological Action of Saponins in Animal Systems: a review. *British Journal of Nutrition*. 88: 587-605.
- Gafur, S. Mahrina, Hardiansyah. 2006. Kerentanan Larva *Aedes aegypti* dari Banjarmasin Utara Terhadap Temepos. *Tesis Bioscirtise III (2)*. Banjar-masin: Unlam.
- Gandahusada, S. 2002. *Parasitologi Kedokteran (edisi ketiga)*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Geocities, R. 2006. Medical Entomology. [serial online]. <http://www.geocities.Com/farm/parasitology/insect.doc-106k>. [12 Maret 2016].
- Haditomo, I. 2010. Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap *Aedes aegypti* L. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Husna, S. N., Priyono, B., & Darwi, A. 2012. Efikasi Ekstrak Daun Lengkuas terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Anopheles aconitus*. *Unnes Journal Life Science*. 01 (01): 41-47
- Isman, B. M., & Seffrin, R. 2014. Natural Insecticides from the Annonaceae: A Unique Example for Developing Biopesticides. *Advances in plant Biopesticides*. Vol. 1: 21-33.
- Istiana, H. F., dan Isnaini. 2012. Status kerentanan larva *Aedes aegypti* terhadap temefos di Banjarmasin Barat. *Jurnal BUSKI*. Vol. 4 (2): 53-58.
- ITIS. 2003. *Klasifikasi Aedes aegypti*. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=126240. [25 Maret 2016].
- ITIS. 2011. *Klasifikasi Annona squamosa*. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=126240. [26 April 2016].
- ITIS. 2011. *Klasifikasi Carica papaya*. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=22324. [27 April 2016].
- Kardinan, A. 2002. *Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.

- Kaihena, M., Laliatu, V. Nindatu, M. 2011. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Anopheles* sp. Dan *Culex* sp. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Molluca Medica*. 88-93.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Kemenkes Terima Laporan Peningkatan Kasus DBD di Jawa Timur*. [http://www.depkes.go.id/article /view/15013000002/kemenkes-terima-laporan-peningkatan-kasus-dbd-di ja-wa-timur.html#sthash.OIGyZuTl.dpuf](http://www.depkes.go.id/article/view/15013000002/kemenkes-terima-laporan-peningkatan-kasus-dbd-di-ja-wa-timur.html#sthash.OIGyZuTl.dpuf). [16 Maret 2016].
- KEW. 2016. *Carica papaya*. <http://www.kew.org/science-conservation/millenni-um-seed-bank/seed-research/carica-papaya>. [27 April 2016].
- Kurniawati, N.D. 2004. *Toksisitas Ekstrak Kasar Daun Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva Nyamuk *Aedes aegypti**. Jember: Pendidikan Biologi Universitas Jember.
- Loren, I. 2016. *Toksisitas Campuran Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Manal, E & Zakaria. 2013. Joint Action of Two Novel Insecticides Mixtures with Insect Growth Regulators, Synergistic Compounds and Conventional Insecticides Against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. Vol.3: 369-378.
- Marianti. 2014. *Pengaruh granul ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L*. [https://www.scribd.com/doc/250234949 /marianti-01-211-6443](https://www.scribd.com/doc/250234949/marianti-01-211-6443) [10 Desember 2015].
- Mayer, H. N. 1982. Brine Shrimp Lethal Test. *Med Plant Research*. 45 (03): 1-34.
- Morton, J. F. 1987. *Fruits and Warm Climates*. London: University of Michigan.
- Muktiani. 2011. *Bertanam Varietas Unggul Pepaya California*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Nurdian, Y. 2003. *Diklat Entomology Kedokteran Aspek Hospes, Agen, Vector dan Lingkungan pada Inveksi Virus Dengue*. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter, Universitas Jember.
- Okoye, E.I. 2011. Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Seeds Of Carica Papaya. *Journal of Basic Physical Research*. Vol. 2(1): 66-69.

- Ponlawat, A., Scott, J.G., Harrington, L.C. 2005. Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus* Across Thailand. *Journal of Medical Entomology*. Vol.42: 821-825.
- Pandey, N., & Barve, D. 2011. Phytochemical and Pharmacological Review on *Annona squamosa* Linn. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol.2(4): 1404-1414.
- Prayoga, A. 2011. *Jurus Sukses Budidaya Pepaya California*. Klaten: bata Pres.
- Rahmawati, D. 2004. Jumlah Daya Tetas, serta Perkembangan Pradewasa *Aedes aegypti* L. Di Laboratorium. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Rangel, F. 2013. *Egg of Aedes Aegypti*. <http://www.fei.com/image-gallery/mosquito-egg/>. [20 April 2016].
- Ridha, R. 2011. Larva *Aedes aegypti* Toleran terhadap Temepos di Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Jurnal Vektora*. Vol. 3(2).
- Rustanti, 2007. *Pengaruh Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata*) dan Biji Mimba (*Azadirachta indica* A Juss) Sebagai Insektisida Nabati Untuk Mengendalikan Hama Tungau Pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)*. Malang: Kimia UIN Malang.
- Sastrodiharjo, N. 1984. *Pengantar Entomologi Terapan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sayono. 2008. Pengaruh Modifikasi Ovitrap terhadap Jumlah Nyamuk Aedes yang Terperangkap. *Skripsi*. Semarang: Program Studi Magister Epidemiologi, Universitas Diponegoro.
- Shalan, E.S., Canyon, D., Younes, M.W.F., Wahab, H.A., Mansour, A.H. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*. Vol. 31: 1149– 1166.
- Soedarmo, S.S.P. 2010. *Demam Berdarah (Dengue) pada Anak*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Soegijanto, S. 2004. *Demam Berdarah Dengue*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Sukadana, I.M., Santi, S.R., Juliarti, N.K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kimia*. Vol.2(1): 15-58.
- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak Srikaya (Budi Daya Untuk Menghasilkan Buah Prima)*. Depok: Penerbit Swadaya.
- Supartha, I. W. 2008. Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn.) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). *Pertemuan Ilmiah Universitas Udayana*. Bali. 3-6 September 2008.
- Supartha, W. I. 2008. Pengendalian Terpadu Vektor virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). *Skripsi*. Denpasar: Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Suryani, A., Mujdalipah, S., Sutanto, A. I., dan Jaelani. 2010. Fraksinasi Metil Ester Minyak Sawit Menggunakan Fractional Distillation Reactor untuk Menghasilkan Metil Ester Palmitat (C16) Dominan. Bogor: Bogor Agricultural Scientific Repository. [Http://Repository.Ipb.Ac.Id/Handle/ 123-456789/71778](http://Repository.Ipb.Ac.Id/Handle/123-456789/71778). [26 Mei 2016].
- Susanti. 2014. *Pengenalan Nyamuk*. <http://respiratory.usu.ac.id/bitstream/123456789/41397/4/Chapter%2011.pdf> [28 Juni 2016]
- Suwahyono, U. 2013. *Membuat Biopestisida*. Jakarta Timur: Penebar Swadaya.
- Syarah, I. M. 2015. Uji Potensi Ekstrak Biji Pepaya Matang (*Carica papaya* L.) sebagai Larvasida terhadap Larva *Culex* sp. *Skripsi*. Malang: Fakultas Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang.
- Tarumingkeng, R.C. 1992. *Insektisida Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya*, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- Taslimah. 2014. Uji Efikasi Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosal* L.) Sebagai Bioinsektisida Dalam Upaya Integrated Vector Management Terhadap *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatulloh.
- Utomo, M., Amalia, S., dan Suryati, F.A. 2010. Daya Bunuh Bahan Nabati Serbuk Biji Pepaya terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti* Isolat Laboratorium B2p2vrp Salatiga. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*. Hal. 152-158.

- Villarreal, M.R. 2016. *The life cycle of mosquitoes*. http://www.biogents.com/cms/website.php?id=/en/traps/mosquitoes/life_cycle.htm. [20 April 2016].
- Wardhana A.H., 2005. Efektifitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Pelarut Air, Metanol dan Heksan terhadap Mortalitas Larva Caplak *Boophilus microplus* secara *In Vitro*: Bogor. *JITV* 10(2): 134-142.
- Wahyuni, D. 2013. Granulasi Senyawa Toksin untuk memberantas larva nyamuk aedes aegypti. *Abstrak dan executive summary*. Fakultas dan Ilmu Pendidikan Unej.
- Widiyastuti, P. dan Salmiyatun. 2004. *Panduan Lengkap Pencegahan dan Pengendalian Dengue dan Demam Berdarah Dengue*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Widodo, F. 2010. *Karakterisasi Morfologi Beberapa Aksesori Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.) di Daerah Sukolilo, Pati, Jawa Tengah*. Surakarta: Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Sebelas Maret.
- Windasari, N. 2011. Toksisitas Ekstrak Biji Srikaya (*Squamosae semen*) dan Pengaruhnya terhadap Viabilitas Rayap Kayu Kering (*Cryptotermes cyanocephalus*). *Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang
- Womack, M., 1993. The Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti*. *Wing Beats*. Vol. 5(4): 4.
- World Health Organization. 2016. *Neurological Syndrome and Congenital Anomalies*. WHO press.
- Yogiraj, V., Goyal, P.K., Chauhan, C.S., Goyal, A., Vyas, Bhupendra. 2014. Carica papaya Linn. *International Journal of Herbal Medicine*. Vol.2(5): 01-08.
- Zettle, Catherine & Kaufman, Philip. 2016. Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus). *IFAS Extension*. University of Florida: Entomology and Nematology Department.
- Zuhud, E. 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker "Asetogenis, Senyawa Aktif dalam Sirsak Pengganti Kemoterapi"*. Jakarta Selatan: PT. Agromedia Pustaka.

LAMPIRAN

LAMPIRAN I. MATRIKS PENELITIAN

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel	Indikator	Metode Penelitian
<p>TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (<i>Carica papaya</i> L.) DAN BIJI SRIKAYA (<i>Annona squamosa</i> L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA NYAMUK <i>Aedes aegypti</i> L.</p>	<p><i>Aedes aegypti</i> L. merupakan vektor utama dari beberapa penyakit kosmopolit, seperti Demam Berdarah Dengue (DBD) dan yellow fever, chikungunya, microcephaly and Guillain-Barré syndrome (WHO, 2016). Pengendalian <i>Aedes aegypti</i> L., yang dilakukan masih dititikberatkan pada penggunaan larvasida kimia yang memiliki dampak negatif bagi lingkungan, sehingga untuk mengurangi dampak negatif dari larvasida kimia yaitu mencari insektisida alternatif yang lebih ramah lingkungan berupa larvasida botani.</p> <p>Tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai sumber larvasida botani adalah pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.). Menurut Pandey (2011) pada ekstrak biji srikaya mengandung senyawa kimia yaitu, Alkaloid (<i>Anonaine</i> dan <i>Samoquasine A</i>) <i>Cyclopeptides</i>, dan <i>Acetogenins</i> (<i>Annonacin</i> dan <i>Squamocin</i>)</p>	<p>a. Berapakah toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan biji srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dalam waktu dedah 24 jam?</p> <p>b. Bagaimana toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan biji srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dibandingkan dengan toksisitas ekstrak biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan ekstrak biji</p>	<p>1. Variabel bebas: konsentrasi campuran ekstrak biji srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) dan biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).</p> <p>2. Variabel terikat: mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada stadium larva instar III akhir hingga instar IV awal dalam waktu dedah 24 jam</p> <p>3. Variabel kontrol: larva uji, aquades, waktu pengujian dan lingkungan laboratorium (suhu dan kelembapan).</p>	<p>Mortalitas atau kematian dari larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. pada waktu dedah 24 jam</p>	<p>1. Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL)</p> <p>2. Tempat penelitian di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, , Laboratorium Toksikologi FKIP Biologi Universitas Jember</p> <p>3. Waktu penelitian dilaksanakan sekitar 1 bulan yaitu mei sampai juni 2016</p> <p>4. Analisis: Menggunakan analisis probit</p>

	<p>sedangkan pada ekstrak biji pepaya mengandung <i>Alkaloids, Flavonoids, Tannin, Saponins, Phenols, Phytate, HCN, Fat, Protein, Steroids, Fibre, Carbohydrate</i> (Okoye, 2011).</p> <p>. Menurut Shaalan et al. (2005), pencampuran beberapa senyawa aktif dari beberapa larvasida botani dapat memberikan efek seperti sinergis, antagonis, dan aditif. Sehingga apabila dua senyawa aktif biji srikaya dan biji pepaya yang bersifat toksik ini dicampurkan, diharapkan akan mampu meningkatkan toksisitas terhadap larva <i>Aedes aegypti</i> L. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu diadakan penelitian dengan judul “TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (<i>Carica papaya</i> L.) DAN BIJI SRIKAYA (<i>Annona squamosa</i> L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA NYAMUK <i>Aedes aegypti</i> L..”.</p>	<p>srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dalam waktu dedah 24 jam?</p> <p>c. Apakah toksisitas campuran ekstrak biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dan biji srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) terhadap mortalitas larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> L. dalam waktu dedah 24 jam bersifat sinergis, antagonis, atau aditif?</p>			<p>dengan aplikasi <i>Minitab 17</i></p>
--	--	--	--	--	--

LAMPIRAN II. HASIL UJI

A. Hasil Uji Pendahuluan

Tabel Mortalitas (%) Larva *Aedes aegypti* L. pada Uji Pendahuluan dengan Campuran Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor.

Konsentrasi (ppm)	Total Larva Uji (ekor)	Jumlah Larva Nyamuk yang Mati	Mortalitas (%)
5	20	1	5
125	20	19	95

Tabel menunjukkan bahwa presentase konsentrasi campuran ekstrak biji srikaya dan biji pepaya terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 5% berada pada konsentrasi 5 ppm dan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 95% berada pada konsentrasi 125 ppm. Hasil uji pendahuluan ini digunakan sebagai acuan penentuan konsentrasi pada uji akhir. Berdasarkan hasil uji pendahuluan maka konsentrasi yang digunakan pada uji akhir berada pada kisaran 1 ppm sampai 125 ppm yaitu, 1 ppm, 5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm 100 ppm, dan 125 ppm dalam waktu dedah 24 jam.

Tabel Mortalitas (%) Larva *Aedes aegypti* L. pada Uji Pendahuluan dengan Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor.

Konsentrasi (ppm)	Total Larva Uji (ekor)	Jumlah Larva Nyamuk yang Mati	Mortalitas (%)
1000	20	1	5
7500	20	19	95

Tabel menunjukkan bahwa presentase konsentrasi ekstrak biji pepaya terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 5% berada pada konsentrasi 1000 ppm dan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 95% berada pada konsentrasi 7500 ppm. Hasil uji pendahuluan ini digunakan sebagai acuan penentuan konsentrasi pada uji akhir. Berdasarkan hasil uji pendahuluan maka konsentrasi yang digunakan pada uji akhir berada pada kisaran 1000 ppm sampai 8000 ppm yaitu, 1000 ppm, 2000 ppm, 3500 ppm, 5500 ppm, 7000 ppm, dan 8000 ppm dalam waktu dedah 24 jam.

Tabel Mortalitas (%) Larva *Aedes aegypti* L. pada Uji Pendahuluan dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dalam Waktu Dedah 24 Jam dengan Jumlah Larva 20 Ekor.

Konsentrasi (ppm)	Total Larva Uji (ekor)	Jumlah Larva Nyamuk yang Mati	Mortalitas (%)
10	20	1	5
250	20	19	95

Tabel menunjukkan bahwa presentase konsentrasi campuran ekstrak biji srikaya terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 5% berada pada konsentrasi 10 ppm dan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 95% berada pada konsentrasi 250 ppm. Hasil uji pendahuluan ini digunakan sebagai acuan penentuan konsentrasi pada uji akhir. Berdasarkan hasil uji pendahuluan maka konsentrasi yang digunakan pada uji akhir berada pada kisaran 10 ppm sampai 250 ppm yaitu, 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm dalam waktu dedah 24 jam.

B. Hasil Uji Akhir

B.1 Hasil Uji Akhir Campuran Ekstrak Biji Pepaya dan Biji Srikaya

Konsentrasi	Jumlah Larva	Ulangan	Mortalitas	Prosentase (%)
1	20	1	1	5
5	20	1	3	15
25	20	1	6	30
50	20	1	9	45
75	20	1	14	70
100	20	1	17	85
125	20	1	20	100
1	20	2	1	5
5	20	2	2	10
25	20	2	6	30
50	20	2	11	55

75	20	2	13	65
100	20	2	17	85
125	20	2	20	100
1	20	3	1	5
5	20	3	2	10
25	20	3	3	15
50	20	3	7	35
75	20	3	11	55
100	20	3	16	80
125	20	3	20	100
1	20	4	2	10
5	20	4	3	15
25	20	4	5	25
50	20	4	9	45
75	20	4	13	65
100	20	4	16	80
125	20	4	19	95

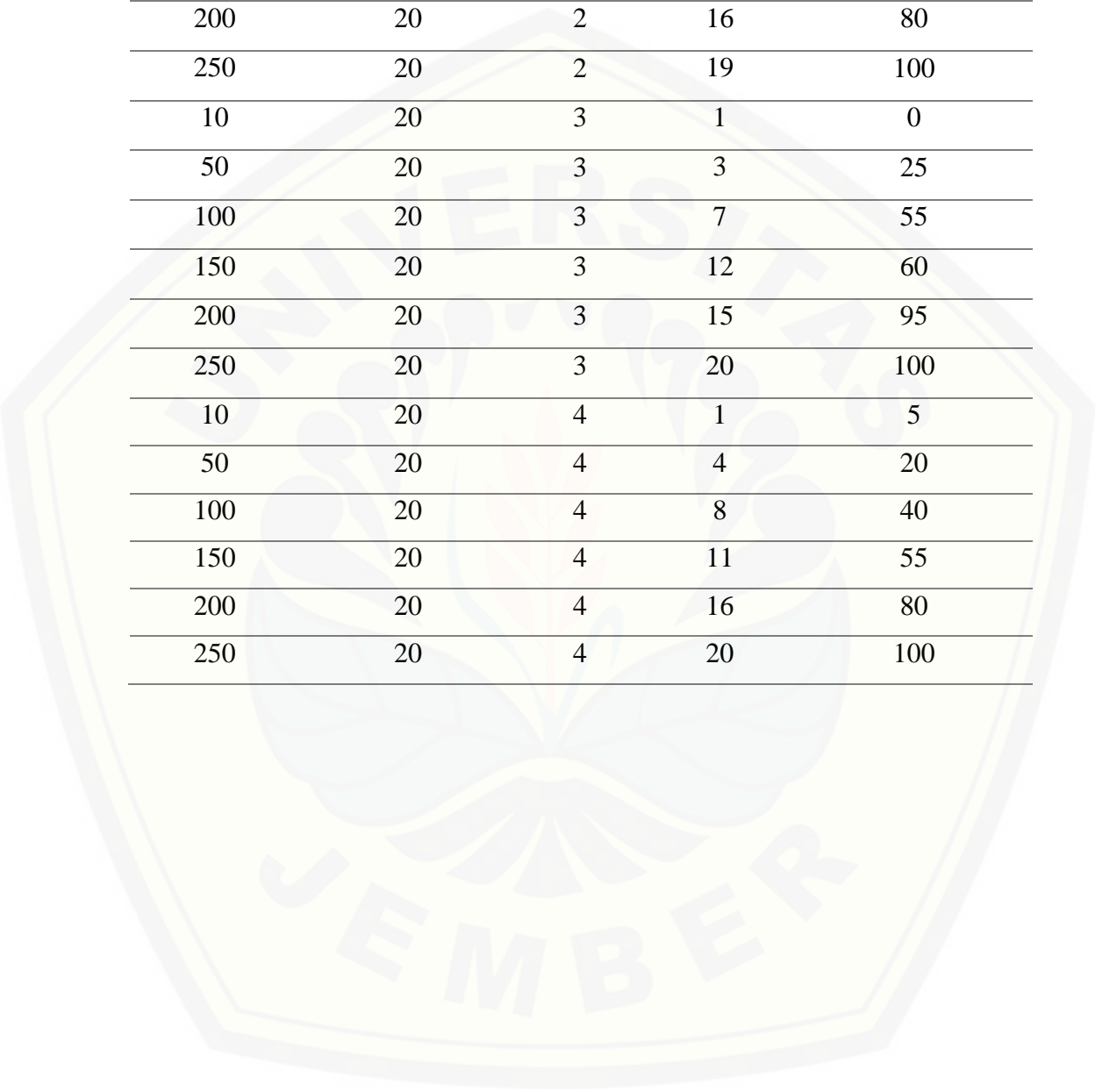
B.2 Hasil Uji Akhir Ekstrak Biji Pepaya

Konsentrasi	Jumlah Larva	Ulangan	Mortalitas	Prosentase (%)
1000	20	1	1	5
2000	20	1	3	15
3500	20	1	9	55
5500	20	1	13	65
7000	20	1	18	90
8000	20	1	20	100
1000	20	2	1	5
2000	20	2	2	10

3500	20	2	8	45
5500	20	2	14	70
7000	20	2	16	80
8000	20	2	20	100
1000	20	3	0	0
2000	20	3	5	25
3500	20	3	6	55
5500	20	3	13	60
7000	20	3	19	95
8000	20	3	20	100
1000	20	4	1	0
2000	20	4	3	15
3500	20	4	7	50
5500	20	4	12	60
7000	20	4	16	80
8000	20	4	20	100

B.3 Hasil Uji Akhir Ekstrak Biji Srikaya

Konsentrasi	Jumlah Larva	Ulangan	Mortalitas	Prosentase (%)
10	20	1	0	5
50	20	1	5	15
100	20	1	9	55
150	20	1	12	65
200	20	1	17	90
250	20	1	20	100
10	20	2	1	5
50	20	2	3	10



100	20	2	8	45
150	20	2	12	70
200	20	2	16	80
250	20	2	19	100
10	20	3	1	0
50	20	3	3	25
100	20	3	7	55
150	20	3	12	60
200	20	3	15	95
250	20	3	20	100
10	20	4	1	5
50	20	4	4	20
100	20	4	8	40
150	20	4	11	55
200	20	4	16	80
250	20	4	20	100

LAMPIRAN III. ANALISIS LC₅₀ MINITAB 17

A. Analisis Probit Campuran Ekstrak Biji Pepaya dan Biji Srikaya

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	267
	Non-event	293
N	Total	560

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-4.11282	0.389184	-10.57	0.000
Konsentrasi Natural Response	1.00223	0.0926836	10.81	0.000

Log-Likelihood = -259.780

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	31.5077	5	0.000
Deviance	32.0720	5	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

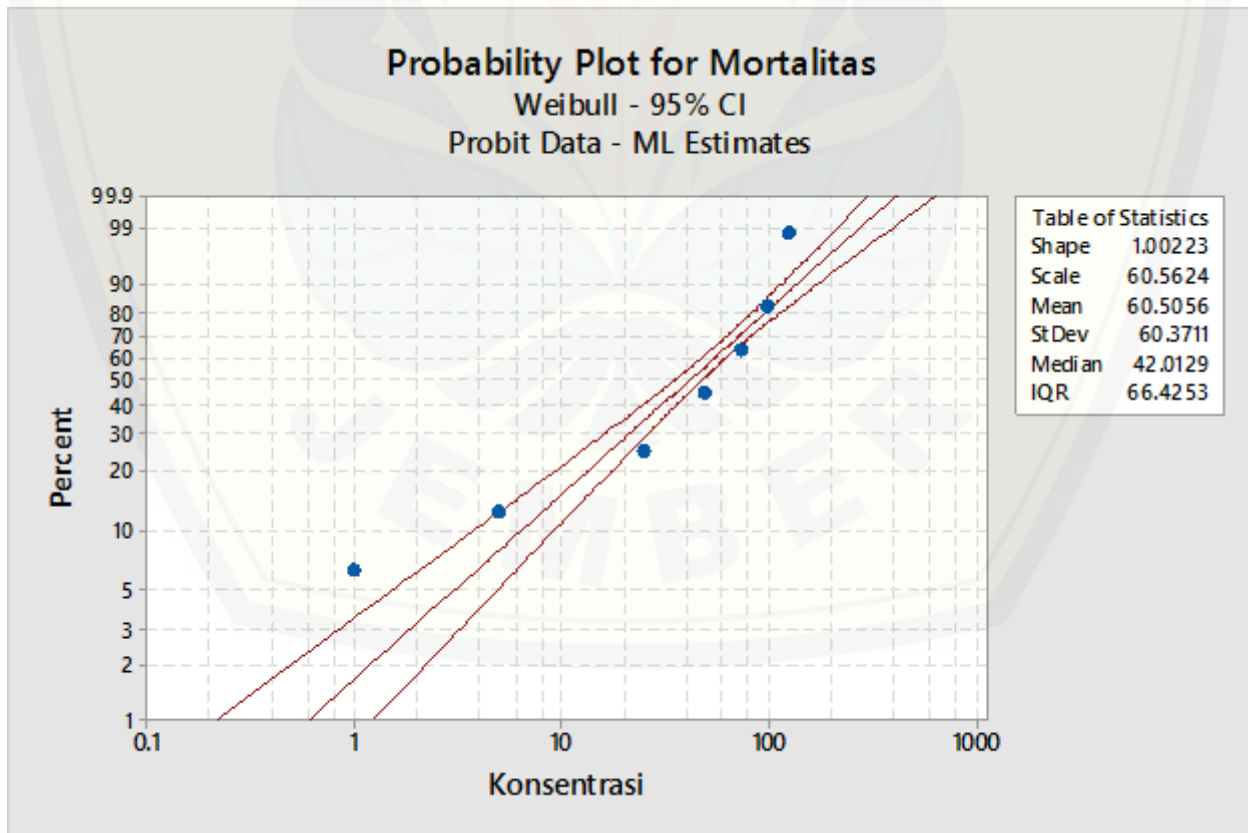
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Shape	1.00223	0.0926836	0.836083	1.20139
Scale	60.5624	4.05522	53.1138	69.0556

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	0.614929	0.266070	0.218761	1.26268
2	1.23418	0.455620	0.511363	2.28138
3	1.85906	0.617171	0.842235	3.23152
4	2.48992	0.760828	1.20200	4.14326
5	3.12703	0.891335	1.58594	5.03006
6	3.77058	1.01146	1.99121	5.89952

7	4.42076	1.12300	2.41592	6.75653
8	5.07776	1.22725	2.85874	7.60451
9	5.74174	1.32515	3.31867	8.44599
10	6.41289	1.41742	3.79499	9.28293
20	13.5592	2.12122	9.38434	17.6583
30	21.6507	2.57146	16.4373	26.5339
40	30.9831	2.88978	25.0821	36.4878
50	42.0129	3.20823	35.5754	48.2905
60	55.5035	3.76333	48.2881	63.2799
70	72.8854	4.98271	63.9260	83.9664
80	97.3684	7.63382	84.4830	115.641
90	139.192	13.8786	117.032	174.788
91	145.546	14.9632	121.788	184.207
92	152.649	16.2101	127.058	194.851
93	160.701	17.6651	132.978	207.058
94	169.996	19.3956	139.744	221.325
95	180.987	21.5079	147.663	238.430
96	194.437	24.1825	157.241	259.684
97	211.774	27.7636	169.422	287.573
98	236.204	33.0398	186.311	327.740
99	277.955	42.6012	214.537	398.512

Probability Plot for Mortalitas



B. Analisis Probit Ekstrak Biji Pepaya

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	247
	Non-event	233
N	Total	480

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-18.6982	1.56296	-11.96	0.000
Konsentrasi Natural Response	2.20081	0.181863	12.10	0.000

Log-Likelihood = -191.134

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	8.1790	4	0.085
Deviance	12.1688	4	0.016

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

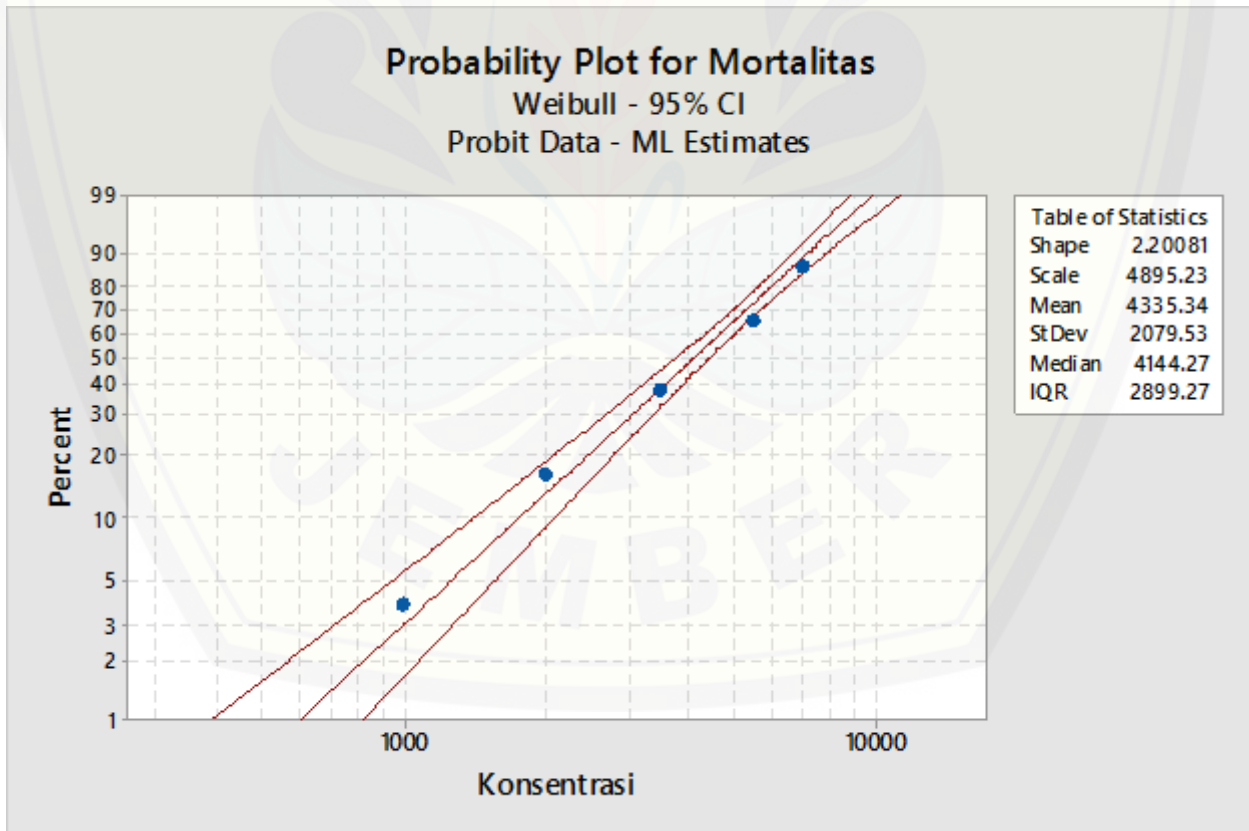
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Shape	2.20081	0.181863	1.87174	2.58775
Scale	4895.23	170.401	4572.39	5240.87

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	605.354	110.904	394.866	825.272
2	831.361	130.957	575.977	1085.49
3	1001.87	142.775	719.017	1275.54
4	1144.45	150.904	842.169	1431.27
5	1269.56	156.912	952.581	1565.90
6	1382.50	161.533	1053.95	1686.02
7	1486.38	165.178	1148.50	1795.45

8	1583.19	168.097	1237.67	1896.62
9	1674.31	170.456	1322.49	1991.20
10	1760.76	172.371	1403.68	2080.38
20	2476.19	178.646	2098.45	2803.23
30	3064.33	175.356	2691.75	3385.42
40	3607.60	169.815	3249.02	3921.74
50	4144.27	165.865	3800.28	4457.78
60	4704.59	167.682	4367.61	5032.75
70	5326.03	181.290	4977.33	5697.96
80	6076.89	216.593	5680.64	6545.75
90	7150.82	297.908	6632.24	7831.65
91	7297.68	311.257	6758.55	8012.98
92	7457.76	326.318	6895.38	8211.92
93	7634.40	343.518	7045.39	8432.91
94	7832.40	363.482	7212.43	8682.40
95	8059.08	387.169	7402.33	8970.20
96	8326.50	416.172	7624.66	9312.54
97	8656.75	453.449	7896.93	9739.24
98	9098.02	505.559	8257.17	10315.7
99	9797.99	593.032	8821.35	11243.7

Probability Plot for Mortalitas



C. Analisis Probit Ekstrak Biji Srikaya

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	240
	Non-event	240
N	Total	480

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-8.12276	0.778259	-10.44	0.000
Konsentrasi Natural Response	1.63987	0.154424	10.62	0.000

Log-Likelihood = -211.392

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	11.9801	4	0.017
Deviance	13.0472	4	0.011

Tolerance Distribution

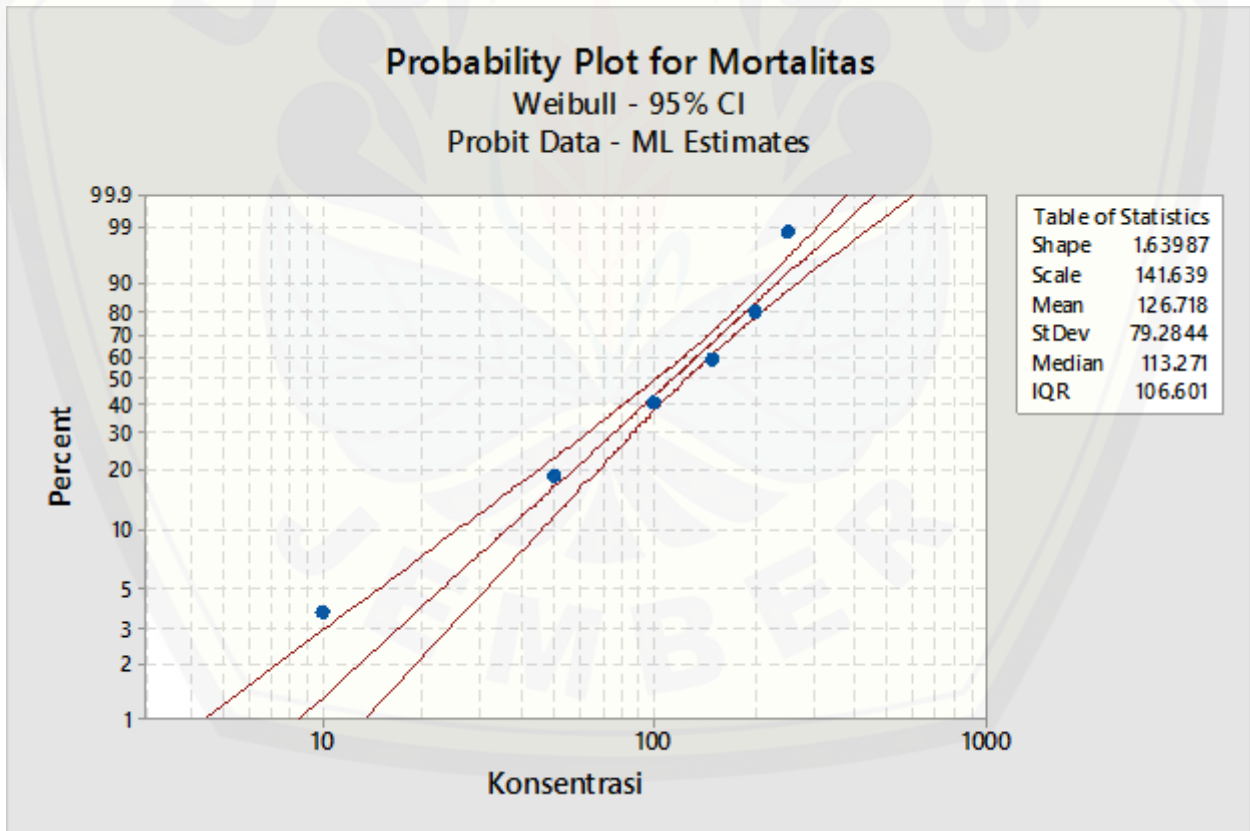
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Shape	1.63987	0.154424	1.36350	1.97227
Scale	141.639	6.34431	129.735	154.636

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	8.56854	2.34643	4.44374	13.4947
2	13.1165	3.07409	7.48141	19.3549
3	16.8481	3.55942	10.1607	23.9325
4	20.1420	3.92481	12.6381	27.8486
5	23.1512	4.21616	14.9805	31.3449
6	25.9566	4.45643	17.2246	34.5458
7	28.6070	4.65895	19.3933	37.5250

8	31.1350	4.83226	21.5021	40.3309
9	33.5635	4.98216	23.5624	42.9970
10	35.9095	5.11284	25.5826	45.5478
20	56.7477	5.80647	44.5733	67.4265
30	75.5367	5.96157	62.8594	86.4403
40	94.0345	5.91890	81.4764	104.960
50	113.271	5.89061	101.031	124.441
60	134.286	6.14262	122.059	146.517
70	158.615	7.07697	145.359	173.676
80	189.328	9.31710	172.946	210.588
90	235.540	14.3649	211.647	270.473
91	242.054	15.1955	216.914	279.243
92	249.207	16.1351	222.654	288.951
93	257.160	17.2119	228.989	299.840
94	266.151	18.4671	236.094	312.262
95	276.539	19.9646	244.236	326.758
96	288.924	21.8112	253.854	344.229
97	304.406	24.2064	265.756	366.343
98	325.411	27.5969	281.710	396.798
99	359.445	33.3990	307.148	447.170



LAMPIRAN IV. KANDUNGAN EKSTRAK BIJI PEPAYA

Table 2: Qualitative phytochemical composition of seeds of *carica papaya*

CONSTITUENTS	BIOASSAY	
	Ethanollic Extract	Aqueous Extract
Alkaloids	+	+
Flavonoids	+	+
Tannin	+	+
Saponins	+	+
Phenols	+	+
Phytate	+	+
HCN	+	+
Fat	+	+
Protein	+	+
Steroids	+	+
Fibre	+	+
Carbohydrate	+	+

+ represents present

- represents absent

Table 3: Quantitative estimate of phytochemical constituents of seeds of *carica papaya*

CONSTITUENTS	QUANTITY % W/V
Alkaloids	1.22 ± 0.060.
Flavonoids	0.34 ± 0.020
Tannin	0.77 ± 0.010
Saponins	0.42 ± 0.001
Phenols	0.12 ± 0.002
HCN	2.64 ± 0.050
Phytate	0.18 ± 0.004
Fat	3.67 ± 0.200
Protein	0.18 ± 0.200
Fibre	2.43 ± 0.030
Carbohydrate	73.51.000

Okoye, E.I. 2011. Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Seeds Of *Carica Papaya*. *Journal of Basic Physical Research*. Vol. 2(1): 66-69.

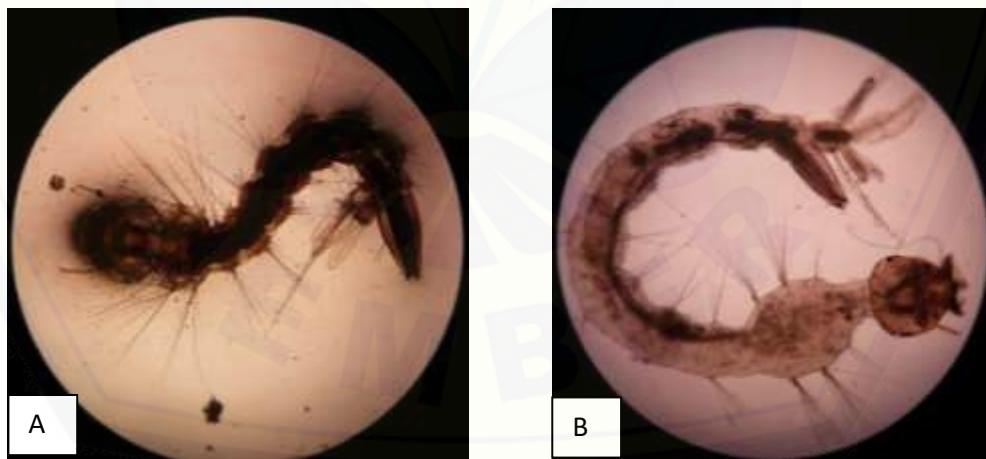
LAMPIRAN V. KANDUNGAN BIJI SRIKAYA

No	Constituents isolated	Parts
	Alkaloids	
1	Anonaine	Leaves, tender stem, bark, roots, seeds.
2	Samoquasine A	Seeds
	Cyclopeptides	
3	Cyclopeptides	Seeds
4	Cyclosqamosin A	Seeds.
5	Cyclosqamosin B	Seeds.
6	Cyclosqamosin C	Seeds.
7	Cyclosqamosin D	Seeds.
8	Cyclosqamosin E	Seeds.
9	Cyclosqamosin F	Seeds.
10	Cyclosqamosin G	Seeds.
11	Cyclosqamosin H	Seeds.
12	Cyclosqamosin I	Seeds.
13	Squamatin A	Seeds.
14	Annosquamosin A	Seeds.
	Acetogenines	
15	Annonacin	Seeds.
16	Annonacin A	Seeds.
17	Annonastatin	Seeds.
18	Squamocin	Seeds.
19	Squamocin-O1	Seeds.
20	Squamocin-O2	Seeds.
21	Squamostatin D	Seeds.
22	(2,4-cis- and trans)-bullatacinone	Seeds.
23	Squamostatin C	Seeds.
24	Annonin I	Seeds.
25	Annonin VI	Seeds.
26	Squamostene-A	Seeds.
27	Reticulacin-1	Seeds.
28	Squamosinin-A	Seeds.
29	Annotemoyin-1	Seeds.
30	Annotemoyin-2	Seeds.

Pandey, N., & Barve, D. 2011. Phytochemical and Pharmacological Review on *Annona squamosa* Linn. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol.2(4): 1404-1414.

LAMPIRAN VI. HASIL PENELITIAN**A.1 Morfologi Telur Nyamuk *Aedes aegypti* L.**

Perbesaran 150x
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

B.1 Morfologi Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. Sebelum Perlakuan (Normal) dan Setelah diberi Perlakuan Secara Mikroskopis

Perbesaran 80x

Keterangan :

A : Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. Sebelum Perlakuan

B : Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. Setelah Perlakuan

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

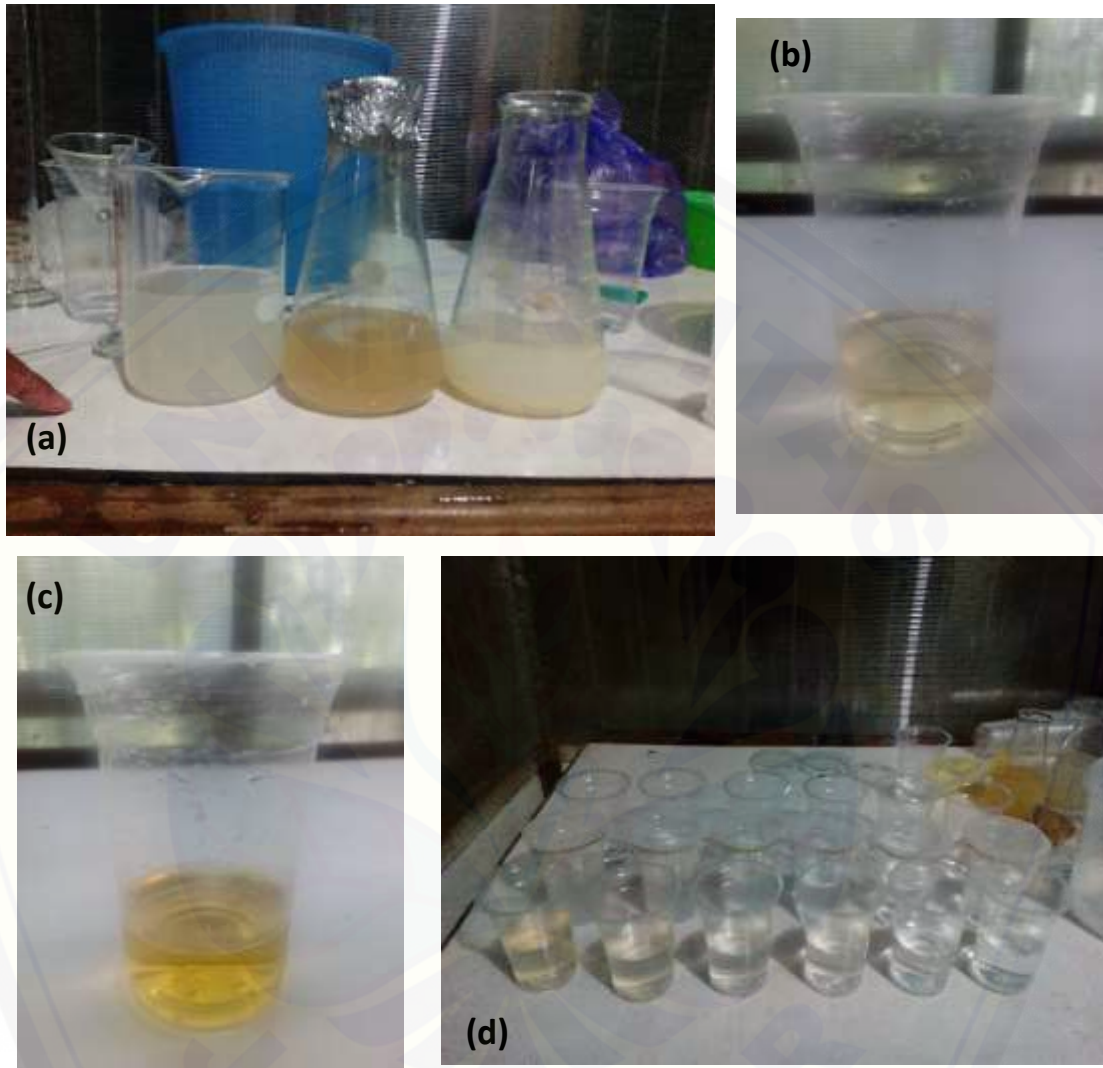
LAMPIRAN VII. DOKUMENTASI PENELITIAN

1. Pembuatan Ekstrak

**Keterangan**

(a) Proses penyortiran biji; (b) Pengovenan biji; (c) Penyelipan biji; (d) Proses maserasi; (e) Penyaringan etanol hasil maserasi; (f) Proses rotary; (g) Ekstrak biji srikaya; (h) Ekstrak biji pepaya.

2. Pembuatan Serial konsentrasi

**Keterangan**

(a) Stok 1000 ppm ekstrak; (b) serial konsentrasi ekstrak biji srikaya 10 ppm; (c) serial konsentrasi ekstrak biji pepaya 5500 ppm; (d) Uji akhir



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475
Laman: www.fkip.unej.ac.id

PERMOHONAN IJIN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini.

Nama : Muhammad Roy Fayzal R.
NIM : 120210103069
Program Studi : Pendidikan Biologi
Jurusan : Pendidikan MIPA
Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan
No. Hp : 082330539300

Mengajukan permohonan ijin penelitian di Laboratorium Biologi FKIP Universitas Jember dengan judul "TOKSISITAS CAMPURAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) DAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.". Dengan ketentuan bersedia mematuhi segala persyaratan yang telah ditentukan oleh laboratorium/instansi tersebut di atas.

Jember, April 2016

Mengetahui

Dosen Pembimbing I

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

Mahasiswa pemohon

Muhammad Roy Fayzal R.
NIM 120210103069

Ketua Laboratorium Biologi,
FKIP Universitas Jember

Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19840223 201012 2 004

3/16/16
8 Roy