

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
BIJI BUAH SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Oleh:

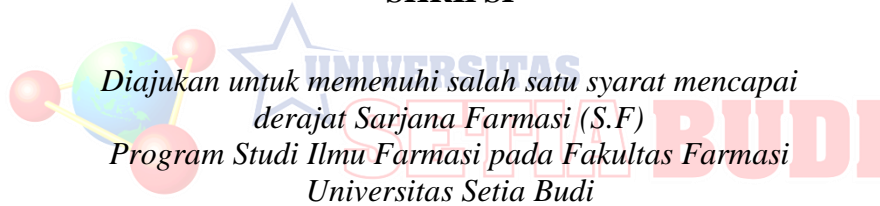
Riska Fridanesti

20144297A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
BIJI BUAH SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

SKRIPSI



Oleh:

Riska Fridanesti

20144297A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR
BIJI BUAH SRIKAYA (*Annona squamosa. L*) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

Oleh :
Riska Fridanesti
20144297A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 16 Januari 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Opstaria Saptarini, M.Si., Apt .

Pembimbing Pendamping

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Wiwin Herdwiani, M. Sc., Apt.
2. Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
4. Fransiska Leviana, M. Sc., Apt.

1.

2.

3.

4.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 15 Januari 2018



Riska Fridanesti

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR BIJI BUAH SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***” ini dengan baik dan lancar.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Hasil pada penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat serta dapat menambah suatu ilmu untuk pengembangan larvasida alami yang aman bagi masyarakat umum.

Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis mampu melalui segala hambatan dan akhirnya mampu menyelesaikan skripsi ini. Oleh sebab itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. Selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta
3. Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Si., Apt. Selaku pembimbing utama yang telah memberi bimbingan, dukungan, dan motivasi sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan
4. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt. Selaku pembimbing pendamping yang telah memberi nasehat, pengarahan, dan motivasi sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
5. Tim penguji yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan pengarahan dan perbaikan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Asisten Dosen, seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium atas segala bentuk bantuan dan kerjasama untuk selama ini.

7. Kedua orang tuaku yang tersayang, terkasih, dan tercinta Papa dan Ibu atas limpahan do'a, kasih sayang, motivasi, dan materi sehingga penulis menjadi lebih semangat dalam menyelesaikan skripsi ini
8. Sahabat, saudara, teman-teman yang berjuang bersama-sama terutama anggota grub Larva, Zaniroh, Mutiya Nur Rizky Meilinasari atas semua bantuan dan kebersamaannya dari awal proposal skripsi, teman-teman Ahsani Yeti Norita Rusdani dan Desi Rolita yang memberi motivasi dan semangat, serta Nanda Kurnia Rizki Nabella yang senantiasa menemani dan membantu dalam segala hal.
9. Segenap pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu penelitian hingga penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan terbatasnya pengalaman dan pengetahuan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran serta masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat menambah pengembangan dalam ilmu kefarmasian.

Surakarta, Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| COVER | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| PENGESAHAN SKRIPSI | iii |
| PERNYATAAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| INTISARI..... | xiii |
| ABSTRACT | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Perumusan Masalah..... | 3 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| D. Kegunaan Penelitian..... | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| A. Tumbuhan Srikaya | 5 |
| 1. Sistematika tumbuhan srikaya..... | 5 |
| 2. Morfologi tumbuhan srikaya..... | 5 |
| 3. Khasiat dan kegunaan | 6 |
| 4. Senyawa biji buah srikaya..... | 6 |
| B. Simplisia | 8 |
| 1. Pengertian simplisia..... | 8 |
| 2. Pencucian dan pengeringan simplisia | 8 |
| C. Metode Penyarian Simplisia | 9 |
| 1. Penyarian..... | 9 |
| 2. Maserasi | 9 |
| 3. Fraksinasi | 9 |
| 4. Pelarut | 10 |
| D. Larvasida..... | 11 |
| E. Abate..... | 12 |
| F. DBD..... | 13 |
| 1. Definisi dan penyebab | 13 |

| | |
|---|-----------|
| 2. Cara penularan..... | 14 |
| 3. Patogenesis | 14 |
| 4. Klasifikasi | 16 |
| 5. Tindakan pencegahan | 16 |
| G. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> | 18 |
| 1. Sistematika nyamuk..... | 18 |
| 2. Morfologi | 18 |
| 3. Habitat..... | 19 |
| 4. Siklus hidup..... | 20 |
| 5. Perilaku hidup..... | 22 |
| H. Landasan Teori..... | 22 |
| I. Hipotesis | 24 |
| J. Kerangka pikir..... | 24 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 25 |
| A. Populasi dan Sampel..... | 25 |
| 1. Populasi..... | 25 |
| 2. Sampel..... | 25 |
| B. Variabel Penelitian | 25 |
| 1. Identifikasi variabel utama | 25 |
| 2. Klasifikasi variabel utama..... | 25 |
| 3. Definisi operasional variabel utama | 26 |
| C. Bahan dan Alat | 27 |
| 1. Bahan | 27 |
| 2. Alat | 27 |
| D. Jalannya Penelitian | 28 |
| 1. Determinasi tanaman srikaya | 28 |
| 2. Pengambilan bahan..... | 28 |
| 3. Pembersihan dan Pengeringan biji buah srikaya | 28 |
| 4. Penetapan susut pengeringan | 28 |
| 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk biji buah srikaya | 28 |
| 6. Pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk biji buah srikaya..... | 29 |
| 7. Penetapan susut pengeringan ekstrak biji buah srikaya..... | 30 |
| 8. Tes bebas etanol | 30 |
| 9. Fraksinasi ekstrak etanol biji buah srikaya | 31 |
| 10. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya..... | 32 |
| 11. Persiapan hewan uji | 32 |
| 12. Preparasi sampel larutan uji | 33 |
| 13. Uji aktivitas larvasida | 33 |
| 14. Penetapan LC ₅₀ | 34 |
| E. Analisis Hasil | 35 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| A. Hasil Penelitian | 36 |
| 1. Deteminasi tanaman | 36 |
| 2. Hasil pengambilan bahan..... | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Hasil pembuatan serbuk serbuk biji buah srikaya | 37 |
| 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya | 37 |
| 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji buah srikaya | 38 |
| 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol biji buah srikaya | 38 |
| 7. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak biji buah srikaya | 39 |
| 8. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak biji buah srikaya | 39 |
| 9. Hasil fraksinasi ekstrak biji buah srikaya | 39 |
| 10. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya | 40 |
| 11. Hasil preparasi sampel larutan uji | 42 |
| 12. Hasil uji aktivitas larvasida | 42 |
| 13. Analisa hasil | 45 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 47 |
| A. Kesimpulan | 47 |
| B. Saran | 47 |
| DAFTAR PUSTAKA | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Nyamuk dewasa <i>Aedes aegypti</i> | 18 |
| 2. Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i> | 22 |
| 3. Skema pembuatan ekstrak etanol biji buah srikaya | 30 |
| 4. Skema pembuatan fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air | 31 |
| 5. Skema uji aktivitas larvasida | 34 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Klasifikasi DBD | 16 |
| 2. Rendemen pengeringan biji buah srikaya..... | 37 |
| 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya | 37 |
| 4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji buah srikaya | 38 |
| 5. Rendemen ekstrak etanol biji buah srikaya | 38 |
| 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak biji buah srikaya..... | 39 |
| 7. Hasil rendemen fraksinasi ekstrak biji buah srikaya | 40 |
| 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak dan fraksi biji buah srikaya dengan pereaksi warna | 41 |
| 9. Hasil uji aktivitas larvasida..... | 42 |
| 10. Hasil penetapan LC ₅₀ | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Hasil determinasi tanaman..... | 54 |
| 2. Surat keterangan larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> | 55 |
| 3. Gambar buah, biji, dan serbuk biji buah srikaya..... | 56 |
| 4. Gambar identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk biji buah srikaya | 57 |
| 5. Gambar ekstrak etanol dan fraksi biji buah srikaya | 58 |
| 6. Gambar hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya..... | 59 |
| 7. Larutan stok | 63 |
| 8. Perhitungan pengambilan larutan stok | 64 |
| 9. Larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> instar III dan uji larvasida | 68 |
| 10. Penetapan LC50 | 70 |
| 11. Analisa data..... | 82 |

INTISARI

FRIDANESTI, R., 2017, UJI AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR BIJI BUAH SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*.

Larvasida adalah insektisida yang dipakai untuk membunuh stadium larva atau nimfa. Biji buah srikaya dapat digunakan sebagai larvasida botani, senyawa yang berperan sebagai larvasida adalah alkaloid, fenolik, saponin dan flavonoid yang masing-masing terkandung dalam biji buah srikaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas larvasida dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya, yang kedua untuk mengetahui nilai LC₅₀ ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah srikaya, dan yang terakhir untuk mengetahui manakah dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya yang paling efektif sebagai larvasida

Penelitian ini menggunakan metode maserasi dalam memperoleh ekstrak biji buah srikaya, sedangkan untuk mendapatkan fraksi menggunakan metode fraksinasi dengan corong pisah. Nilai aktivitas larvasida dinilai dari kematian larva yang digambarkan dengan nilai LC₅₀ yang dihitung dengan menggunakan rumus probit.

Nilai rata-rata LC₅₀ pada ekstrak etanol sebesar 0,130, fraksi etil asetat sebesar 1,600 ppm, pada fraksi *n*-heksana 2,233 ppm, dan pada fraksi air 7,829 ppm. Hasil rata-rata nilai LC₅₀ ekstrak biji buah srikaya mempunyai aktivitas larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kata kunci : larvasida, biji buah srikaya, ekstrak, fraksi, LC₅₀

ABSTRACT

FRIDANESTI, R., 2017, TEST OF LARVASIDAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, N-HEKSANA FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION, AND WATER FRACTION OF SWEETSOP SEEDS (*Annona squamosa* L.) AGAINST LARVAE OF *Aedes aegypti*.

Larvasidal is an insecticide used to kill the stage of larvae or nymph. The seeds of sweetsop can be used as botanical larvacide, the compounds that act as larvicides are alkaloids, phenolics, saponins and flavonoids who have inconsist in sweetsop seeds. This study aims to determine the larvacidal activity of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of sweetsop seeds, the second is to determine LC₅₀ value of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of sweetsop seeds, and the last is to determine the most effective larvaside from hanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, or water fraction of sweetsop seeds

This research used maseration to obtained sweetsop seeds extract, while to got fraction was used fractionation by separating funnel. The value of larvacidal activity was assessed from the mortality of the larvae depicted by the LC₅₀ value calculated by used the probit formula.

The mean value of LC₅₀ ethanol extract was 0,130 ppm, in the ethyl acetate fraction was 1,600 ppm, in *n*-hexane fraction was 2,325 ppm, and in water fraction was 7,829 ppm. The results showed that ethanol extract of sweetsop seeds has the most effective larvacidal activity against 3rd instar of *Aedes aegypti* larvae.

Keywords: larvacide, sweetsop seeds, extract, fraction, LC₅₀

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) masih merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia, data dari Direktorat Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonosis Kementerian Kesehatan menyebutkan kejadian luar biasa (KLB) penyakit demam berdarah dengue dilaporkan ada di 12 Kabupaten dan 3 Kota dari 11 Provinsi di Indonesia. Kementerian Kesehatan RI mencatat jumlah penderita demam berdarah dengue di Indonesia pada bulan Januari-Februari 2016 sebanyak 8.487 orang dengan jumlah kematian 108 orang. Setiap tahun kejadian penyakit demam berdarah dengue di Indonesia cenderung meningkat pada pertengahan musim penghujan, pada bulan Januari dan Februari tahun 2017 terdapat beberapa laporan mengenai peningkatan jumlah penderita demam berdarah dengue pada beberapa daerah di Indonesia (Depkes 2016).

Demam Berdarah Dengue (DBD) disebabkan virus dengue yang termasuk kelompok B *Arthropod Borne Virus (Arboviroses)* yang sekarang dikenal sebagai genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*, dan mempunyai 4 jenis serotipe, yaitu: DEN-1 (*Dengue virus-1*), DEN2 (*Dengue virus-2*), DEN-3 (*Dengue virus-3*), dan DEN-4 (*Dengue virus-4*). Vektor penyakit ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* yang terinfeksi virus Dengue. Selama kira-kira 1 minggu setelah mengisap darah penderita, nyamuk tersebut siap untuk menularkan kepada orang lain (masa inkubasi ekstrinsik). Virus ini akan tetap berada dalam tubuh nyamuk sepanjang hidupnya, oleh karena itu nyamuk *Aedes aegypti* yang telah terinfeksi virus Dengue akan menjadi penular (infektif) sepanjang hidupnya (Siregar 2004).

Pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengurangi angka penderita DBD adalah memutuskan lingkaran penularan dengan cara memberantas vektornya terutama pada stadium jentik (larva). Pengendalian vektor dalam

stadium larva dimaksudkan untuk memutus siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* agar tidak berkembang menjadi nyamuk dewasa yang infentif (Pribadi 2013).

Pencegahan atau pengendalian DBD yang dapat dilaksanakan saat ini adalah dengan pengendalian vektor untuk memutuskan rantai penularan. Salah satu pengendalian ditujukan pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. Cara yang bisa digunakan untuk membunuh larva adalah dengan menggunakan larvasida. Penggunaan larvasida dapat mengurangi penggunaan keseluruhan pestisida dalam program pengendalian nyamuk (Pribadi 2013).

Pemberantasan vektor stadium jentik dapat dilakukan dalam dua cara, yaitu secara biologi dan kimiawi (Munif 2007), namun cara kimiawi jika digunakan secara berlebihan dapat membahayakan manusia dan organisme lain, sehingga diperlukan adanya terobosan menggunakan tanaman untuk larvasida botani, agar efek buruk dari penggunaan bahan kimia dapat dicegah atau dikurangi serta aman bagi lingkungan karena residu dari larvasida botani mudah hilang jika dibandingkan dengan larvasida kimiawi. Biji buah srikaya merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai larvasida botani.

Biji buah srikaya mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan asetogenin (Taslimah 2014). Kandungan flavonoid dan saponin dapat menjadi racun dan menghambat perkembangan larva yang kemudian menyebabkan kematian larva. Senyawa saponin bekerja menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan, selain itu saponin juga menyebabkan rusaknya membran sel dan terganggunya proses metabolisme larva (Andarwulan *et al* 2010; Novizan 2002). Senyawa flavonoid berkerja sebagai racun pernafasan dengan cara masuk dalam tubuh larva melewati sistem pernafasan sehingga terjadi kelayuan pada saraf dan rusaknya sistem pernafasan yang mengakibatkan larva tidak bernafas dan akhirnya mati (Cania & Setyaningrum 2013). Senyawa alkaloid bekerja sebagai penghambat asetilkolinesterase, sehingga asetilkolin gagal dipecah dan menumpuk dalam tubuh larva sehingga menyebabkan kematian larva (Satria & Prasetyowati 2012).

Penelitian Romianingsih dan Muderawan (2015), telah membuktikan bahwa ekstrak biji buah srikaya memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk

Aedes aegypti instar III dengan nilai LC_{50} 28,64 ppm. Loren (2015) juga meneliti ekstrak biji buah srikaya terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* instar III akhir-instar IV awal dengan nilai LC_{50} sebesar 12,54 ppm. Berdasarkan hasil LC_{50} tersebut maka biji buah srikaya masuk dalam kategori toksik sedang (10-100 ppm) menurut Komisi Peptisida Nasional. Tujuan dilakukannya fraksinasi adalah untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa nonpolar akan masuk ke pelarut non polar, sehingga dapat dibedakan fraksi mana yang lebih aktif sebagai larvasida.

Berdasarkan uraian diatas peneliti mencoba menguji aktivitas larvasida dari ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Tujuan dilakukan penelitian terhadap fraksi adalah untuk mengetahui senyawa mana yang terdapat pada biji srikaya yang mempunyai aktivitas sebagai larvasida berdasarkan sifat kepolarannya.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah pertama, apakah ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ?

Kedua, berapakah nilai LC_{50} dari ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ?

Ketiga, manakah dari ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang mempunyai aktivitas larvasida paling efektif ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk : pertama, mengetahui aktivitas larvasida ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol 96%

biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, mengetahui nilai LC_{50} dari ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Ketiga, mengetahui aktivitas larvasida paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dari fraksi dan ekstrak etanol 96% biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.).

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah dan ilmu pengetahuan kepada masyarakat tentang manfaat ekstrak etanol 96% fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai larvasida botani sehingga dapat meningkatkan pemanfaatan limbah biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) untuk membunuh larva *Aedes aegypti* dengan harapan bisa membantu menurunkan angka kejadian DBD melalui pemberantasan jentik-jentik nyamuk *Aedes aegypti*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Srikaya

1. Sistematika tumbuhan srikaya

Menurut Taslimah (2014) klasifikasi dari tanaman srikaya sebagai berikut:

| | |
|----------|-----------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Subkelas | : Magnoliidae |
| Ordo | : Magnoliales |
| Famili | : Annonaceae |
| Genus | : <i>Annona</i> |
| Spesies | : <i>Annona squamosa</i> L. |

2. Morfologi tanaman srikaya

Tanaman srikaya adalah tumbuhan yang memiliki batang dengan tinggi 3-7 meter berkayu dengan bentuk bulat (teres), permukaan batang memperlihatkan banyak lenti sel dan berwarna coklat muda. Pertumbuhan batang arah tegak lurus dan termasuk tumbuhan menahun atau tumbuhan keras (Ridhia *et al.* 2013). Helai daun srikaya berbentuk lanset atau lonjong lanset, ujung dan pangkal daun runcing, dasar lengkung, tepi rata, dan berwarna hijau pucat pada kedua permukaannya (Orwa *et al.* 2009).

Bunga tanaman srikaya bergerombol pendek menyamping dengan panjang sekitar 2,5 cm dengan jumlah 2-4 kuntum berwarna kuning kehijauan yang saling berhadapan pada tangkai kecil panjang berambut dengan panjang 2 cm. Daun bunga bagian luar berwarna hijau, ungu pada bagian bawah. Terdapat banyak serbuk sari bergerombol putih, putik berwarna hijau muda dan panjang putik 1,3-1,9 cm dan lebar 0,6-1,3 cm yang tumbuh menjadi kelompok-kelompok buah (Taslimah, 2014). Buah srikaya bila telah matang memiliki kulit yang mengkilap, sisiknya merenggang dan daging buah berwarna putih (Mulyani *et al.* 2013).

Biji buah srikaya membujur disetiap karpel, berbentuk ellipsoid berwarna coklat tua hingga hitam dengan panjang 1,3-1,6 cm. Satu buah srikaya mengandung 10-50 biji dan dalam satu biji memiliki berat 5-18 gram. Biji srikaya mengandung banyak minyak yang digunakan sebagai insektisida (Taslimah, 2014).

3. Khasiat dan kegunaan

Menurut penelitian Yang *et al.* (2009) menyebutkan bahwa senyawa sitotoksik yang diisolasi dari fraksi non polar ekstrak etanol 95% biji srikaya terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap beberapa jenis sel kanker. Contoh jenis tumor yang dipengaruhi oleh biji buah srikaya antara lain *human Hep G2 hepatoma cells*, *human Hep G2 and 3B hepatoma*, *human MDA-MB-231 breast cancer cell*, dan *MCF-7 breast cancer cells*

Penelitian Xie *et al.* (2003) juga mengemukakan bahwa senyawa asetogenin dalam biji srikaya memiliki aktivitas sitotoksik *in vitro* terhadap sel kanker. Asetogenin banyak terkandung dalam bangsa *Annonaceae* yang berpotensi memiliki aktivitas antikanker, parasitisidal, dan antimikroba (Pardhasaradhi, 2004). Secara empirik biji srikaya berkhasiat sebagai pembunuh serangga (insektisida), memacu enzim pencernaan, dan abortivum (Gunawan *et al.* 2001).

Penelitian Romianingsih dan Muderawan (2015), telah membuktikan bahwa ekstrak biji buah srikaya memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dengan nilai LC_{50} 28,64 ppm. Nilai LC_{50} sebesar 28,64 ppm tergolong memiliki *range* toksisitas sedang menurut komisi peptisida nasional.

4. Senyawa biji buah srikaya

Biji srikaya mengandung senyawa kimia annonain yang terdiri dari squamosin dan asimisin (Hermianto *et al.* 2004). Biji srikaya mengandung senyawa alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, asetogenin (squamosin A, squamosin B, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, N, annonain, anonasin A, anonin I, IV, VI, VIII, IX, XVI, skuamostatin A, bulatasin, skuamon, neoanonin B, asimisin, sanonasin, anonastatin neoanonin). Komposisi asam lemak penyusun minyak

biji srikaya terdiri dari metil palmitat, metil stearate, metil linoleat (Tasmilah 2014).

4.1. Sifat senyawa alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Sovia 2006). Sebagai larvasida senyawa alkaloid berperan dalam penghambatan pencernaan makanan dan penurunan proses perkembangan dari larva dengan mekanisme meracuni aktivitas *growth-stimulating* (Saxena 1992).

4.2. Sifat senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbanyak di alam. Berdasarkan ikatannya dengan gula, flavonoid terdiri dari dua kelompok yaitu glikosida yang berikatan dengan satu atau lebih molekul gula, dan yang lain yaitu aglikon adalah flavonoid yang tidak berikatan dengan gula. Kebanyakan flavonoid yang berasal dari tumbuh-tumbuhan adalah dalam bentuk glikosida (Williamson 2004). Aktivitas farmakologis dari flavonoid dianggap berasal dari rutin (glikosida flavonol). Flavonoid dapat digunakan sebagai obat karena mempunyai bermacam-macam bioaktivitas seperti : antiinflamasi, antibakteri, antikanker, antifertilitas, antiviral, antidiabetes, antidepresan dan antidiare (Spencer & Jeremy 2008; Cushnie & Lamb 2011). Sebagai larvasida, senyawa flavonoid berkerja sebagai racun pernafasan dengan cara masuk dalam tubuh larva nyamuk melewati sistem pernafasan sehingga terjadi kelayuan pada saraf dan rusaknya sistem pernafasan yang mengakibatkan larva tidak bernafas dan akhirnya mati (Cania & Setyaningrum 2013). Senyawa flavonoid juga mengganggu mekanisme energi didalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron (Agnetha 2008).

4.3. Sifat senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa aktif yang bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi dari kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Harborne 1987). Saponin memiliki rasa yang pahit, menusuk, dan menyebabkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin termasuk

dalam golongan senyawa glikosida. Senyawa ini menghasilkan aglikon bila terhidrolisis dan bersifat polar. Sifat polar ini dikarenakan kandungan glukosa yang dikandung saponin, dimana glukosa memiliki banyak OH yang bersifat polar. Mekanisme dari senyawa saponin sebagai larvasida belum diketahui secara pasti namun beberapa hipotesa mengatakan bahwa saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan serta dapat menyebabkan ketoksikan pada sel insektisida (Geyter *et al* 2007).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes 1995). Simplisia nabati adalah simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat murni (Depkes 2000).

Simplisia harus memenuhi syarat minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan, maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Depkes 2000).

2. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk memisahkan kotoran dan bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut air, pencucian dilakukan dalam waktu secepat mungkin (Prastowo 2013).

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penurunan mutu atau perusakan simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan

menghentikan reaksi enzimatis. Reaksi enzimatis tidak akan berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatis bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% (Prastowo 2013).

C. Metode Penyarian Simplisia

1. Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemisahan masa. Zat aktif yang semula berada didalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Umumnya penyarian akan bertambah baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari lebih luas (Depkes 1986).

2. Maserasi

Maserasi berasal dari kata bahasa latin *macerare* yang berarti perendaman, sehingga maserasi adalah proses pengestraksian simplisia dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut organik dengan beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada temperatur ruangan. Teknik maserasi digunakan terutama jika senyawa organik metabolit sekunder yang ada dalam bahan tersebut cukup banyak persentasinya dan ditemukan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa tersebut tanpa dilakukan pemanasan. Proses ini sangat menguntungkan karena dengan proses perendaman, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan bahan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Harborne 1987).

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari nonpolar, semipolar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan

larut dalam pelarut nonpolar, yang semipolar akan larut dalam pelarut semipolar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harborne 1987).

Pelarut yang memiliki massa jenis lebih tinggi akan berada di lapisan bawah, dan yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada di lapisan atas. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak nantinya akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Senyawa akan tertarik oleh pelarut yang tingkat kepolarannya sama dengan dengan senyawa tersebut.

4. Pelarut

4.1. Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tannin dan saponin hanya sedikit larut (Depkes 2005). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh pada etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan pemekatannya lebih mudah (Depkes 1986). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel, memperbaiki stabilitas bahan obat pelarut. Keuntungan lainnya adalah sifat untuk mengendapkan bahan albumin dan dapat menghambat kerja enzim. Umumnya berlaku sebagai cairan pengestraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan, terutama campuran etanol-air. Etanol biasanya menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestraksi (Voigt 1994).

4.2. *n*-Heksana. *n*-heksana merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat *volatile*, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dan dapat larut dalam alkohol, *benzene*, kloroform, dan eter. Uapnya mudah meledak apabila berikatan dengan udara, sebaiknya disimpan pada tempat yang dingin. *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar (Depkes 1985). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil dan resin (Depkes 2005).

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semipolar, mudah terbakar, dan menguap. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan ester, etanol, dan kloroform (Depkes 1979). Senyawa yang larut ke dalam pelarut ini adalah flavonoid dan dapat melarutkan air hingga 3% (Harborne 1987).

4.4. Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun. Air dapat melarutkan enzim, sehingga enzim yang larut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang menyebabkan penurunan mutu, tetapi adanya air dapat mempercepat proses hidrolisa. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan, disamping zat aktif ikut tersari juga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes 1986).

D. Larvasida

Larvasida yaitu insektisida yang dipakai untuk membunuh stadium larva atau nimfa. Menurut macamnya bahan kimia, insektisida dibagi dalam : insektisida anorganik, insektisida organik yang berasal dari alam yang terdiri atas golongan insektisida yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan golongan insektisida yang berasal dari bumi, insektisida organik sintetik (Gandahusada *et al* 1998).

Menurut cara masuknya ke dalam tubuh serangga, insektisida dibagi menjadi tiga yaitu : racun kontak (*contact poison*), insektisida masuk melalui *eksoskelet* ke dalam tubuh serangga dengan perantara tarsus (jari-jari kaki serangga) pada waktu hinggap dipermukaan yang mengandung residu insektisida, racun perut (*stomach poison*), dan jenis insektisida yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui sistem pernapasan atau melalui permukaan kulit serangga (Gandahusada *et al.* 1998). Insektisida yang baik mempunyai sifat sebagai berikut: mempunyai daya bunuh besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi manusia, murah harganya dan mudah didapat dalam jumlah besar, mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar, mudah dipergunakan dan

dapat dicampur dengan berbagai macam pelarut, tidak berwarna dan tidak berbau yang tidak menyenangkan (Gandahusada *et al.* 1998).

Mekanisme kerja larvasida dalam membunuh larva adalah sebagai racun perut (stomach poison) yang mempunyai mekanisme, insektisida masuk ke dalam tubuh larva melalui mulut larva, jadi insektisida masuk melalui makanan yang dimakan. Larva mati dikarenakan racun yang masuk melalui makanan tadi kemudian dalam sel tubuh nyamuk akan menghambat metabolisme sel yaitu menghambat transport elektron dalam mitokondria sehingga pembentukan energi dari makanan sebagai sumber energi dalam sel tidak terjadi dan sel tidak dapat beraktifitas, hal ini yang menyebabkan larva mati (Suyanto 2009).

E. Abate

Abate merupakan larvasida golongan organofosfat yang sudah digunakan masyarakat luas karena mempunyai toksisitas tinggi terhadap larva nyamuk. Abate mengandung Temephos 1% sebagai zat aktifnya (Runia 2008).

Temephos adalah insektisida organofosfat non sistemik yang digunakan untuk mengontrol nyamuk, larva, blackfly (*Simulidae*), dan lain-lain. Temephos tersedia dalam sediaan mencapai 50% emulsi konsentrat, 50% serbuk basah, dan bentuk granuler yang mencapai 5% (Raharjo 2006). Temephos murni berupa kristalin putih padat, dengan titik lebur 30°C-30,5°C, berwarna kecolatan dalam larutan. Tidak larut dalam air pada suhu 20°C (kurang dari 1 ppm). Larut dalam aseton, aseronitril, ether dan kebanyakan aromatik dan klorinasi hidrokarbon. Tidak larut dalam heksana. Mudah terdegradasi bila terkena sinar matahari, sehingga kemampuan membunuh larva tergantung dari degradasi tersebut (WHO 2005).

Pestisida-pestisida yang tergolong di dalam senyawa fosfatorganik kerjanya menghambat enzim kolinesterase, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung syaraf tersebut, hal ini lah yang mengakibatkan kematian (Raharjo 2006). Metabolisme temephos yaitu gugus phosphorothioat dalam tubuh binatang diubah menjadi fosfat yang lebih potensial sebagai antikolin esterase. Larva *Aedes aegypti* mampu mengubah

phosphorothioat menjadi fosfat ester lebih cepat dibandingkan lalat rumah, begitu pula penetrasi temephos ke dalam larva berlangsung cepat lebih dari 99% temephos dalam medium diabsorpsi dalam waktu satu jam setelah perlakuan. Setelah diabsorpsi, abate diubah menjadi produk-produk metabolisme, sebagian dari produk metabolik tersebut diekskresikan ke dalam air (Daniel 2008).

Dosis abate yang mempunyai pengaruh dan dapat membunuh jentik nyamuk *Aedes sp* dimulai dari 100 mg/L air dan daya bunuh paling cepat didapatkan dari dosis 400 mg/L sampai 500 mg/L. Dosis abate 50 mg/L tidak mempunyai pengaruh dan tidak dapat membunuh jentik nyamuk *Aedes spp* (Florensia 2014). Temephos relatif aman dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Meskipun begitu, dalam dosis tinggi, temephos, dapat menimbulkan overstimulasi sistem saraf menyebabkan pusing, mual, kebingungan, dan pada paparan yang sangat tinggi dapat menyebabkan paralisa nafas dan kematian (USEPA 2007).

Keracunan fosfat organik pada serangga diikuti oleh ketidaktenangan, tremor, konvulsi, kemudian kelumpuhan otot (paralisa). Namun demikian penyebab utama kematian pada serangga sukar ditunjukkan, kecuali pada larva nyamuk kematiannya disebabkan karena tidak dapat mengambil udara untuk bernafas (WHO 2005).

F. DBD

1. Definisi dan penyebab DBD

Penyakit Demam Berdarah Dengue adalah penyakit infeksi virus akut yang disebabkan oleh virus dengue akibat gigitan nyamuk *Aedes aegypti* yang terinfeksi salah satu dari empat tipe virus dengue (DEN1, DEN2, DEN3, DEN4). Infeksi salah satu serotipe akan menimbulkan antibodi terhadap serotipe yang bersangkutan, sedangkan antibodi yang terbentuk terhadap serotipe lain sangat kurang, sehingga tidak dapat memberikan perlindungan yang memadai terhadap serotipe lain tersebut. Seseorang yang tinggal di daerah endemis dengue dapat terinfeksi oleh 3 atau 4 serotipe selama hidupnya. Keempat

serotipe virus dengue dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia (Hanim 2013).

Di Indonesia, pengamatan virus dengue yang dilakukan sejak tahun 1975 di beberapa rumah sakit menunjukkan bahwa keempat serotipe ditemukan dan bersirkulasi sepanjang tahun. Serotipe DEN-3 merupakan serotipe yang dominan dan diasumsikan banyak yang menunjukkan manifestasi klinik yang berat (Hanim 2013).

2. Cara penularan

Penyakit Demam Berdarah Dengue ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Virus dengue berada dalam darah selama 4-7 hari mulai 1-2 hari sebelum demam. Bila penderita tersebut digigit nyamuk penular, maka virus dalam darah akan ikut terhisap masuk dalam lambung nyamuk. Selanjutnya virus akan memperbanyak diri dan tersebar diberbagai jaringan tubuh nyamuk termasuk pada kelenjar liurnya. Kira-kira 1 minggu setelah mengisap darah penderita, nyamuk tersebut siap untuk menularkan kepada orang lain (masa inkubasi ekstrinsik). Virus ini akan tetap berada dalam tubuh nyamuk sepanjang hidupnya. Oleh karena itu nyamuk *Aedes aegypti* yang telah mengisap virus dengue itu menjadi penular (infektif) sepanjang hidupnya. Penularan ini terjadi karena setiap kali nyamuk menusuk sebelum mengisap darah akan mengeluarkan air liur melalui alat tusuknya (*proboscis*) agar darah yang dihisap tidak membeku. Bersama air liur inilah virus dengue dipindahkan dari nyamuk ke orang lain (Siregar 2004).

3. Patogenesis DBD

Kurane dan Ennis pada tahun 1994 merangkum pendapat Halstead dan peneliti lain, menyatakan bahwa infeksi virus dengue menyebabkan aktivasi makrofag yang memfagositosis kompleks virus-antibodi non netralisasi sehingga virus bereplikasi di makrofag. Terjadinya infeksi makrofag oleh virus dengue menyebabkan aktivasi T helper dan T sitotoksik sehingga diproduksi limfokin dan interferon gamma. Interferon gamma akan mengaktivasi monosit sehingga disekresi berbagai mediator inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, PAF (platelet

activating factor), IL-6, dan histamin yang mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel dan terjadi kebocoran plasma (Suhendro *et al.* 2006).

Peningkatan C3a dan C5a terjadi melalui aktivasi oleh kompleks virus antibodi yang juga mengakibatkan terjadinya kebocoran plasma. Trombositopenia pada infeksi dengue terjadi melalui mekanisme supresi sumsum tulang dan destruksi dan pemendekan masa hidup trombosit. Gambaran sumsum tulang pada fase awal infeksi (kurang dari 5 hari) menunjukkan keadaan hiposeluler dan supresi megakariosit. Setelah keadaan nadir tercapai akan terjadi peningkatan hematopoiesis termasuk megakariopoiesis (Suhendro *et al.* 2006).

Kadar trombopoietin dalam darah pada saat terjadi trombositopenia justru menunjukkan kenaikan. Hal ini menunjukkan terjadinya stimulasi trombopoiesis sebagai mekanisme kompensasi terhadap keadaan trombositopenia. Destruksi trombosit terjadi melalui pengikatan fragmen C3g, terdapatnya antibodi VD, konsumsi trombosit selama proses koagulopati dan sekuestrasi di perifer. Gangguan fungsi trombosit terjadi melalui mekanisme gangguan pelepasan ADP, peningkatan kadar b-tromboglobulin dan PF4 yang merupakan pertanda degranulasi trombosit. Koagulopati terjadi sebagai akibat interaksi virus dengan endotel yang menyebabkan disfungsi endotel. Berbagai penelitian menunjukkan terjadinya koagulopati konsumtif pada demam berdarah dengue stadium III dan IV (Suhendro *et al.* 2006).

4. Klasifikasi DBD

Tabel 1. Klasifikasi derajat infeksi virus *dengue* (Suhendro *et al.* 2006)

| Derajat | Gejala | Laboratorium |
|---------|---|--|
| I | Demam disertai 2 atau lebih tanda : sakit kepala, nyeri retro-orbital, myalgia, arthralgia, uji bendung positif | Trombositopenia, ditemukan bukti kebocoran plasma. |
| II | Demam disertai 2 atau lebih tanda : sakit kepala, nyeri retro-orbital, myalgia, arthralgia, uji bendung positif, dan adanya pendarahan spontan | Trombositopenia, ditemukan bukti kebocoran plasma. |
| III | Demam disertai 2 atau lebih tanda : sakit kepala, nyeri retro-orbital, myalgia, arthralgia, uji bendung positif, dan adanya pendarahan spontan ditambah kegagalan sirkulasi (kulit dingin dan lembab serta gelisah) | Trombositopenia, ditemukan bukti kebocoran plasma. |
| IV | Syok berat disertai dengan tekanan darah dan nadi tidak terukur. | Trombositopenia, ditemukan bukti kebocoran plasma. |

5. Tindakan pencegahan

Kejadian luar biasa DBD pada sejumlah daerah menjadi pendorong kuat dalam pencegahan penularan DBD. Kegiatan yang harus dilakukan saat terjadi KLB yaitu: pengobatan atau perawatan penderita, penyelidikan epidemiologi,

pemberantasan vektor, penyuluhan kepada masyarakat, dan evaluasi atau penilaian penanggulangan KLB.

Pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengurangi angka penderita DBD adalah memutuskan lingkaran penularan dengan cara memberantas vektornya. Empat prinsip dalam membuat perencanaan pemberantasan vektor, yaitu: Mengambil manfaat dari adanya perubahan musiman keadaan nyamuk oleh pengaruh alam, memutuskan lingkaran penularan dengan cara menahan kepadatan vektor pada tingkat yang rendah untuk memungkinkan penderita penderita pada masa viremia sembuh sendiri, mengusahakan pemberantasan vektor di semua daerah dengan potensi penularan tinggi, yaitu daerah padat penduduknya dengan kepadatan nyamuk cukup tinggi, mengusahakan pemberantasan vektor di pusat pusat penyebaran seperti sekolah, rumah sakit, serta daerah penyangga sekitarnya (Hanim 2013). Salah satu pengendalian vektor DBD adalah pada stadium larva yang dimaksudkan untuk memutus siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* agar tidak berkembang menjadi nyamuk dewasa yang infentif (Pribadi 2013). Pemutusan siklus ini akan membantu penurunan angka kejadian DBD pada suatu daerah.

Larvasida yang biasa digunakan dalam masyarakat contohnya adalah Abate. Abate merupakan larvasida golongan organofosfat yang mempunyai toksisitas tinggi terhadap larva nyamuk. Abate mengandung Temephos 1% sebagai zat aktifnya (Runia 2008). Mekanisme dari Abate adalah menghambat enzim kolinesterase, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung syaraf tersebut, hal ini lah yang mengakibatkan kematian (Raharjo 2006).

G. Nyamuk *Aedes aegypti*

1. Sistematika nyamuk

Klasifikasi nyamuk *Aedes aegypti* menurut Sudarto (2002) adalah sebagai berikut :

| | |
|------------|------------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Arthropoda |
| Kelas | : Insecta |
| Ordo | : Diptera |
| Sub ordo | : Nematocera |
| Famili | : Culicidae |
| Sub famili | : Culicinae |
| Genus | : Aedes |
| Spesies | : <i>Aedes aegypti</i> |



Gambar 1. Nyamuk dewasa *Aedes aegypti* (Richard 1996)

2. Morfologi

Morfologi telur *Aedes aegypti* L. berbentuk lonjong, panjangnya $\pm 0,6$ mm dan beratnya 0,0113 mg. Pada waktu diletakkan telur berwarna putih, 15 menit kemudian telur menjadi abu-abu dan setelah 40 menit menjadi hitam. Pada dindingnya terdapat garis-garis menyerupai kawat kasa atau sarang tawon (Sungkar 2005).

Larva *Aedes aegypti* melalui 4 stadium larva dari instar I, II, III dan IV. Larva instar I, tubuhnya sangat kecil, warna transparan, panjang 1-2 mm, duri-duri (spinae) pada dada (thorax) belum begitu jelas, dan corong pernapasan (siphon) belum menghitam. Larva instar II bertambah besar, ukuran 2,5-3,9 mm, duri dada belum jelas, dan corong pernapasan sudah berwarna hitam. Larva instar III berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan

corong pernafasan berwarna coklat kehitaman. Larva instar IV telah lengkap struktur anatominya dan jelas tubuh dapat dibagi menjadi bagian kepala (caput), dada (thorax), dan perut (abdomen). Larva instar IV mempunyai tanda khas yaitu pelana yang terbuka pada segmen anal, sepasang bulu siphon dan gigi sisir yang berduri lateral pada segmen abdomen ke-7 (Sungkar 2005).

Pupa nyamuk *Aedes aegypti* bentuk tubuhnya bengkak, dengan bagian kepala-dada (*cephalotorax*) lebih besar bila dibandingkan dengan bagian perutnya, sehingga tampak seperti tanda baca koma. Pada bagian punggung (dorsal) dada terdapat alat bernafas seperti terompet. Pada ruas perut ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Alat pengayuh tersebut berjumbai panjang dan bulu di nomor 7 pada ruas perut ke-8 tidak bercabang. Sebagaimana larva, pupa juga membutuhkan lingkungan akuatik (air). Pupa adalah fase inaktif yang tidak membutuhkan makan, namun tetap membutuhkan oksigen untuk bernafas. Untuk keperluan pernafasannya pupa berada di dekat permukaan air. Lama fase pupa tergantung dengan suhu air dan spesies nyamuk yang lamanya dapat berkisar antara satu hari sampai beberapa minggu (Supartha 2008).

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa berukuran kecil, berwarna hitam dengan bintik-bintik putih di tubuhnya dan cincin-cincin putih dikakinya (Jirakanjanakit & Dujardin 2005). Bagian tubuh terdiri atas kepala, thorax dan abdomen. Tanda khas *Aedes aegypti*. Berupa gambaran *lyre form* pada bagian dorsal thorax (mesotum). Sayap berukuran 2,5-3 mm, bersisik hitam, mempunyai vena yang permukaannya ditumbuhi sisik-sisik sayap (*wing scales*) yang letaknya mengikuti vena. Pada pinggir sayap terdapat sederet rambut yang disebut *fringe* (Gandahusada 1998; Sumarmo 1983; Sungkar 2005).

3. Habitat

Telur, larva dan pupa nyamuk *Aedes aegypti*. Tumbuh dan berkembang di dalam air. Genangan yang disukai sebagai tempat perindukan nyamuk ini berupa genangan air yang tertampung di suatu wadah yang biasanya kontainer atau tempat penampungan air bukan genangan air di tanah. Tempat perindukan yang paling potensial adalah Tempat Penampungan Air (TPA) yang digunakan

sehari-hari seperti drum, tempayan, bak mandi, bak WC, ember dan sejenisnya. Tempat perindukan tambahan adalah disebut non-TPA, seperti tempat minuman hewan, barang bekas, vas bunga dan lain-lainnya, sedangkan TPA alamiah seperti lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa, kulit kerang, pangkal pohon pisang, potongan bambu dan lain-lainnya. Nyamuk *Aedes aegypti* lebih tertarik untuk meletakkan telurnya pada TPA yang berwarna gelap, paling menyukai warna hitam, terbuka lebar, dan terutama yang terletak di tempat-tempat terlindung sinar matahari langsung. Nyamuk *Aedes aegypti* hidup domestik, lebih menyukai tinggal di dalam rumah daripada luar rumah. Kebiasaan istirahat lebih banyak di dalam rumah pada benda-benda yang bergantung, berwarna gelap dan di tempat-tempat lain yang terlindung (Soegijanto 2004).

4. Siklus Hidup

Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* secara sempurna yaitu melalui 4 stadium, yaitu telur, larva, pupa, dan dewasa (Sudarto 1972). Larva berubah menjadi pupa memerlukan waktu 4-9 hari dan melalui 4 fase instar, dan waktu yang diperlukan dari pupa menjadi nyamuk adalah sekitar 2-3 hari.

4.1. Telur. Pada waktu dikeluarkan, telur *Aedes aegypti* berwarna putih dan berubah menjadi warna hitam dalam waktu 30 menit. Telur diletakkan satu demi satu di permukaan air, atau sedikit di bawah permukaan air dalam jarak lebih kurang 2,5 cm dari tempat perindukan. Telur dapat bertahan sampai berbulan-bulan dalam suhu 2-4°C, namun akan menetas dalam waktu 1-2 hari dalam kelembapan rendah. Pada dalam kondisi normal, telur *Aedes aegypti* yang direndam dalam air akan menetas sebanyak 80% pada hari pertama dan 95% pada hari kedua. Telur *Aedes aegypti* berukuran kecil (50 μ), sepintas tampak bulat panjang dan berbentuk lonjong (oval) mempunyai torpedo. Di bawah mikroskop, pada dinding luar (*exochorion*) telur nyamuk ini, tampak adanya garis-garis membentuk gambaran seperti sarang lebah. Berdasarkan jenis kelaminnya, nyamuk jantan akan menetas lebih cepat dibanding nyamuk betina, serta lebih cepat menjadi dewasa. Faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah suhu,

pH air perindukan, cahaya, serta kelembapan di samping fertilitas telur itu sendiri (Sudarto 1972).

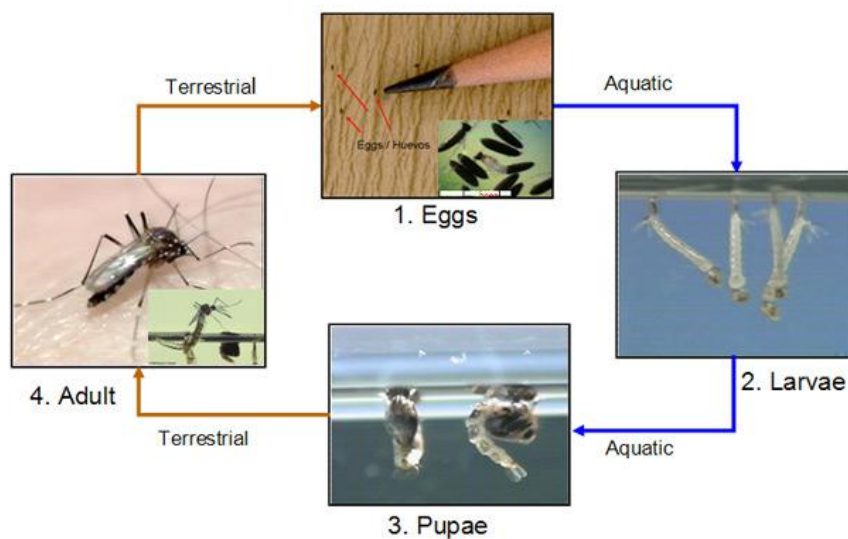
4.2. Larva. Setelah menetas telur akan berkembang menjadi larva (jentik-jentik). Pada stadium ini kelangsungan hidup larva dipengaruhi suhu, pH air perindukan, ketersediaan makanan, cahaya, kepadatan larva, lingkungan hidup, serta adanya predator (Sudarto 1972).

Temperatur optimal untuk perkembangan larva adalah 25-30°C. Larva berubah menjadi pupa memerlukan waktu 4-9 hari dan melalui 4 fase instar. Perubahan instar tersebut disebabkan larva mengalami pengelupasan kulit atau biasa disebut *moulting*. Perkembangan dari instar I ke instar II berlangsung 2-3 hari, kemudian dari instar II ke instar III dalam waktu 2 hari, dan peruban instar III ke instar IV dalam waktu 2-3 hari (Sudarto 1972)

4.3. Pupa. Larva instar IV akan berubah menjadi pupa yang berbentuk bulat gemuk menyerupai tanda koma. Untuk menjadi nyamuk dewasa diperlukan waktu 2-3 hari. Suhu untuk perkembangan yang optimal adalah sekitar 27-32°C.

Pada pupa terdapat kantong udara yang terletak di antara bakal sayap nyamuk dewasa dan terdapat sepasang sayap pengayuh yang saling menutupi sehingga memungkinkan pupa untuk menyelam cepat dan mengadakan serangkaian gerakan sebagai reaksi terhadap rangsang. Stadium pupa tidak memerlukan makanan. Bentuk nyamuk dewasa timbul serta sobeknya selongsong pupa oleh gelembung udara karena gerakan aktif pupa (Sudarto 1972).

4.4. Dewasa. Setelah keluar dari selongsong pupa, nyamuk akan diam beberapa saat di selongsong pupa untuk mengeringkan sayapnya. Nyamuk betina dewasa menghisap darah sebagai makanannya, sedangkan nyamuk jantan hanya makan cairan buah-buahan dan bunga. Setelah berkopulasi, nyamuk betina menghisap darah dan 3 hari kemudian akan bertelur sebanyak lebih kurang 100 butir. Nyamuk akan menghisap darah lagi. Nyamuk dapat hidup baik pada suhu 24-39°C dan akan mati bila berada pada suhu 6°C dalam 24 jam. Nyamuk dapat hidup dalam suhu 7-9°C. Rata-rata lama hidup nyamuk betina *Aedes aegypti* selama 10 hari (Sudarto 1972).



Gambar 2. Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* (NCEZID 2009)

5. Perilaku

Aedes aegypti bersifat diurnal atau aktif pada pagi hingga siang hari. Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang mengisap darah. Hal itu dilakukannya untuk memperoleh asupan protein yang diperlukannya untuk memproduksi telur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah, dan memperoleh energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan. Jenis ini menyukai area yang gelap dan benda-benda berwarna hitam atau merah. Nyamuk *Aedes aegypti* jarak terbangnya pendek. Nyamuk betina mempunyai jarak terbang lebih jauh daripada nyamuk jantan (Gandahusada dkk. 1998).

H. Landasan Teori

Berdasarkan penelitian sebelumnya biji buah srikaya mempunyai aktivitas sebagai biolarvasida yang mampu membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* (Romianingsih & Muderawan 2015). Aktivitas larvasida tersebut dikarenakan dalam biji buah srikaya mengandung senyawa aktif yaitu saponin, alkaloid, dan flavonoid.

Alkaloid sebagai larvasida berperan dalam penghambatan pencernaan makanan dan penurunan proses perkembangan dari larva dengan mekanisme meracuni aktivitas *growth-stimulating* (Saxena 1993), menurut pendapat Satria dan Prasetyowati 2012 senyawa alkaloid juga bekerja sebagai penghambat

asetilkolinesterase, sehingga asetilkolin gagal dipecah dan menumpuk dalam tubuh larva sehingga menyebabkan kematian larva.

Mekanisme pada flavonoid sebagai racun pernafasan dengan cara masuk dalam tubuh larva nyamuk melewati sistem pernafasan sehingga terjadi kelayuan pada saraf dan rusaknya sistem pernafasan yang mengakibatkan larva tidak bernafas dan akhirnya mati (Cania & Setyaningrum 2013). Agnetha (2008) berpendapat bahwa mekanisme flavonoid sebagai larvasida adalah dengan mengganggu mekanisme pembentukan energi didalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron.

Mekanisme dari senyawa saponin sebagai larvasida belum diketahui secara pasti namun beberapa hipotesa mengatakan bahwa saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan serta dapat menyebabkan ketoksikan pada sel insektisida. Senyaw saponin juga memiliki sifat mengiritasi membran mukosa dari larva sehingga dapat merusak sel larva dan menyebabkan kematian (Geyter *et al* 2007).

Fenolik merupakan senyawa yang bersifat sebagai inhibitor pencernaan (Atmowidi 2003). Apabila polifenol termakan oleh serangga, maka zat tersebut akan menurunkan kemampuan serangga dalam mencerna makanan (Nursal *et al.* 2003). Kandungan saponin dan polifenol pada ekstrak tersebut bekerja sebagai racun perut dan racun pernafasan dimana zat tersebut dapat masuk ke tubuh larva melalui mulut larva kemudian meracuni larva tersebut (Aminah *et al.* 2001).

Biji buah srikaya dapat digunakan untuk larvasida alami karena memiliki senyawa bioaktif seperti saponin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol (Dalimartha 2009). Saponin, polifenol, dan flavonoid dapat ditarik pada fraksinasi dengan pelarut etil asetat dan air, sedangkan alkaloid dapat ditarik pada fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan air.

Penelitian Romianingsih dan Muderawan (2015), telah membuktikan bahwa ekstrak biji buah srikaya memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dengan nilai LC_{50} 28,64 ppm. Nilai LC_{50} tersebut tergolong toksisitas sedang menurut komisi peptisida nasional.

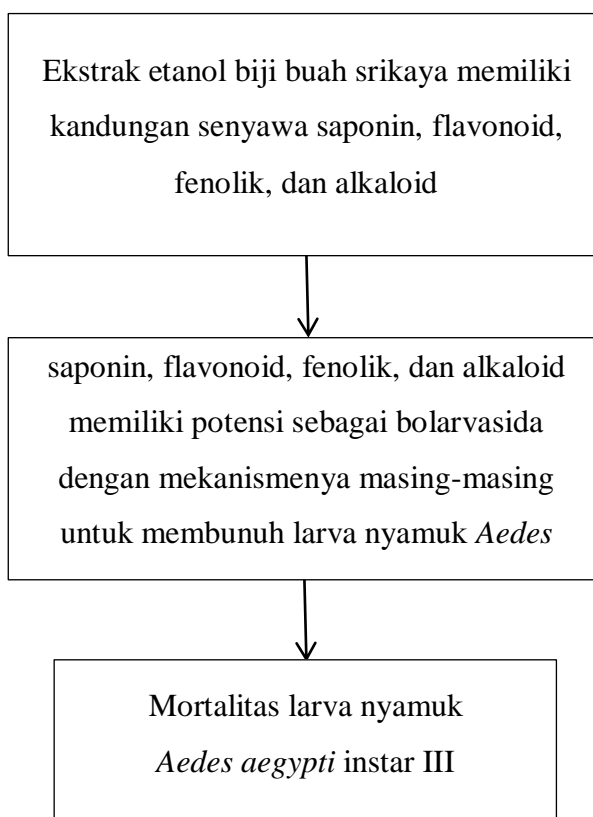
I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini adalah: pertama, ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai aktivitas sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, pada konsentrasi 28,64 ppm ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai daya larvasida yang efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Ketiga, pada fraksi etil asetat biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai aktivitas larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

F. Kerangka pikir penelitian



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang diperoleh dari Kediri, Jawa Timur.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang diperoleh dari Kediri, Jawa Timur. Dipilih biji yang utuh dari buah segar srikaya. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Juli 2017 di Kediri, Jawa Timur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah serbuk biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-heksana sebagai pelarut dengan sifat non polar, etil asetat sebagai pelarut dengan sifat semi polar, dan air sebagai pelarut dengan sifat polar. Variabel utama kedua adalah aktivitas larvasida nyamuk *Aedes aegypti*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yakni variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas. Variabel

terkendali dalam penelitian ini adalah batas waktu pengamatan (24 jam), larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, metode maserasi, dan metode fraksinasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III yang dinyatakan dengan nilai LC₅₀.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, biji buah srikaya adalah biji dari buah tanaman srikaya (*Annona squamosa* L.) yang diperoleh dari Kediri, Jawa Timur.

Kedua, serbuk biji srikaya adalah biji buah srikaya yang sudah dicuci bersih dan diangin-anginkan dan dioven untuk memastikan biji benar-benar kering (kadar air kurang dari 10%), kemudian dihancurkan hingga menjadi serbuk kasar dan diayak dengan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak etanol 96% biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah hasil ekstraksi serbuk biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan *vacuum evaporator* pada suhu 40°C.

Keempat, fraksi *n*-heksana biji srikaya adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 96% biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan menggunakan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut nonpolar, kemudian dipekatkan sehingga didapatkan fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat biji srikaya adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 96% biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar, kemudian dipekatkan sehingga didapatkan fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air biji srikaya adalah residu dari fraksinasi etil asetat yang dikumpulkan kemudian dipekatkan sehingga diperoleh fraksi air.

Ketujuh, larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedelapan, tingkat kematian adalah banyaknya larva nyamuk *Aedes aegypti* yang mati dalam konsentrasi ekstrak etanol 96% fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.).

Kesembilan, LC_{50} adalah konsentrasi ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang dapat memberikan efek kematian 50% dari jumlah larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Kesepuluh, uji aktivitas larvasida adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui efektifitas larutan uji untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) yang diperoleh dari Kediri, Jawa Timur

1.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan antara lain *n*- heksana, abate, aquades, tween 80, etanol 96%, etil asetat, pereaksi : HCL; serbuk Mg; reagen Mayer, reagen Dragendrof, pelarut amil alkohol,xylen, dan toluen.

1.3. Hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

2. Alat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi penggilingan, neraca elektrik, tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, corong pisah, timbangan analitik, statif, *vacuum evaporator*, corong kaca, spatel, batang pengaduk, wadah plastik, kaca pembesar cawan porselen, aluminium foil, labu alas bulat, lampu spirtus, *waterbath*, kondensor, dan wadah maserator.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi dan identifikasi tanaman srikaya

Determinasi tanaman yang dilakukan dalam penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel dengan mencocokkan ciri morfologi terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Biji buah srikaya diambil dari daerah Kediri, Jawa Timur, biji buah srikaya diambil dalam keadaan utuh pada buah srikaya segar dan pengambilan secara acak.

3. Pembersihan, pengeringan, dan pembuatan serbuk biji buah srikaya

Biji buah srikaya yang sudah dipisahkan dari buahnya kemudian dicuci bersih dengan air mengalir hingga terbebas dari kotoran dan sisa daging buah. Biji buah srikaya yang telah bersih, dikering anginkan kemudian dioven pada suhu 45°C hingga kering. Biji buah srikaya yang telah kering kemudian diserbuk lalu diayak dengan ayakan no. 40, kemudian dilakukan pengukuran prosentase serbuk biji buah srikaya bobot kering terhadap bobot basah. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya

Metode penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Caranya dengan menimbang serbuk biji buah srikaya sebanyak 2 gram, dimasukkan dalam alat yang telah dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00. Kemudian ditunggu hingga menunjukkan penurunan berat sampel. Pengukuran akan terhenti dengan ditandai adanya bunyi, dan ditekan tanda persen apabila ingin mengetahui jumlah prosentase yang terukur dalam persen (%).

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk biji buah srikaya

Identifikasi kandungan kimia biji buah srikaya dimaksudkan untuk memperoleh kebenaran kandungan kimia dalam biji buah srikaya adalah sebagai berikut :

5.1. Identifikasi saponin. Serbuk biji buah srikaya dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila berbentuk buih mantap setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Depkes 1977).

5.2. Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 gram serbuk biji buah srikaya ditambah 100 ml air panas, dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas filtrat yang diperoleh sebagai larutan sampel, kemudian dimasukkan 5 ml larutan sampel dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCL 2%. Larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I untuk pembanding, tabung reaksi II ditambah 2-4 tetes reagen Dragendorf, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat, tabung reaksi III ditambahkan 2-4 tetes reagen Mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya endapan putih kekuningan.

5.3. Penyiapan sampel. Serbuk biji buah srikaya ditambah 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A (Depkes 1977).

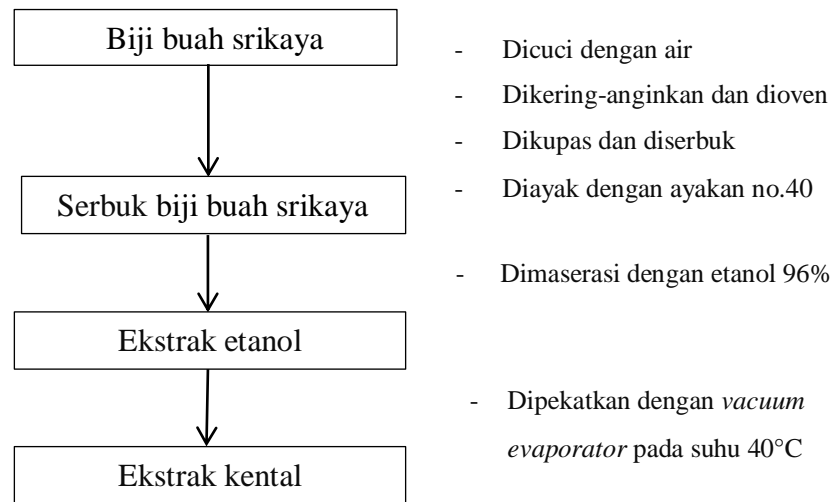
5.4. Identifikasi flavonoid. Larutan A sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977).

5.5. Identifikasi polifenol. Serbuk biji buah srikaya sebanyak 1 gram ditambah aquadest 1 ml ditambah 5 ml FeCl₃ 1% akan terbentuk warna ungu, hijau, merah, biru atau hitam yang kuat (Robinson 1995)

6. Pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk biji buah srikaya

Pembuatan ekstrak biji buah srikaya dilakukan dengan metode maserasi yang dilakukan dengan memasukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 10 bagian pelarut (Depkes 2013). Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 3 hari. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental.

Skema pembuatan ekstrak dapat dilihat pada gambar nomor 3.



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol serbuk biji buah srikaya.

7. Penetapan susut pengeringan ekstrak biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.)

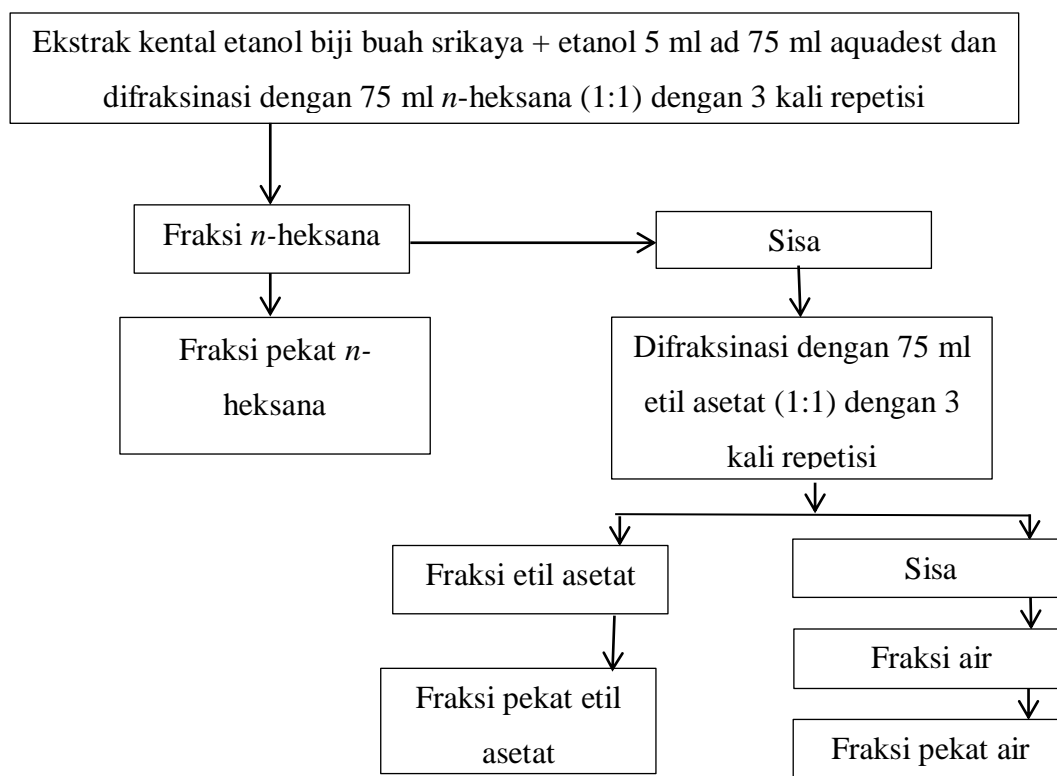
Metode penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Caranya dengan menimbang serbuk biji buah srikaya sebanyak 2 gram, dimasukkan dalam alat yang telah dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00. Kemudian ditunggu hingga menunjukkan penurunan berat sampel. Pengukuran akan terhenti dengan ditandai adanya bunyi, dan ditekan tanda persen apabila ingin mengetahui jumlah prosentase yang terukur. Hasil penetapan kadar lembab dihitung dalam satuan persen (%).

8. Tes bebas etanol

Tes bebas etanol ekstrak biji buah srikaya dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak biji buah srikaya ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan, bila tidak ada bau ester berarti tidak ada etanol lagi (Praeparandi 1978).

9. Fraksinasi ekstrak etanol biji buah srikaya

Fraksinasi dilakukan dengan cara ditimbang 10 gram ekstrak biji buah srikaya kemudian dilarutkan dengan etanol 5 ml ad aquades 75 ml, difraksi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 ml menggunakan corong pisah. Fraksi *n*-heksana yang didapat, dikumpulkan kemudian diuapkan dengan *vacuum evaporator*. Fraksi *n*-heksana yang kental ini disebut fraksi pekat *n*-heksana. Lapisan sisa fraksinasi yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat yang didapat, dikumpulkan kemudian diuapkan dengan *vacuum evaporator*, sehingga didapatkan fraksi pekat etil asetat. Residu hasil partisi dari etil asetat kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *vacuum evaporator*, hasil yang diperoleh disebut sebagai fraksi air. Skema pembuatan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dapat dilihat pada gambar skema 4.



Gambar 4. Skema pembuatan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

10. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya

10.1. Identifikasi saponin. Ekstrak atau fraksi biji buah srikaya dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila berbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Depkes 1977).

10.2. Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 gram ekstrak atau fraksi biji buah srikaya ditambah 100 ml air panas, dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas, filtrate diperoleh sebagai larutan sampel, kemudian dimasukkan 5 ml larutan sampel dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCl 2%. Larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I untuk pembandingan, tabung reaksi II ditambah 2-4 tetes reagen Dragendorf, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat, tabung reaksi III ditambah 2-4 tetes reagen Mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya endapan putih kekuningan.

10.3. Penyiapan sampel. Ekstrak atau fraksi biji buah srikaya ditambah 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A (Depkes 1977)

10.4. Identifikasi flavonoid. Larutan A sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977).

10.5. Identifikasi polifenol. Ekstrak atau fraksi biji buah srikaya sebanyak 1 gram ditambah aquadest 1 ml ditambah 5 ml FeCl₃ 1% akan terbentuk warna ungu, hijau, merah, biru atau hitam yang kuat (Robinson 1995)

11. Persiapan hewan uji

Penetasan telur dimulai dengan menaruh telur pada wadah atau nampan berisi air hingga telur yang menempel pada kertas terendam seluruhnya, setelah 24 jam telur tersebut akan menetas dan tumbuh menjadi larva instar I. Telur-telur

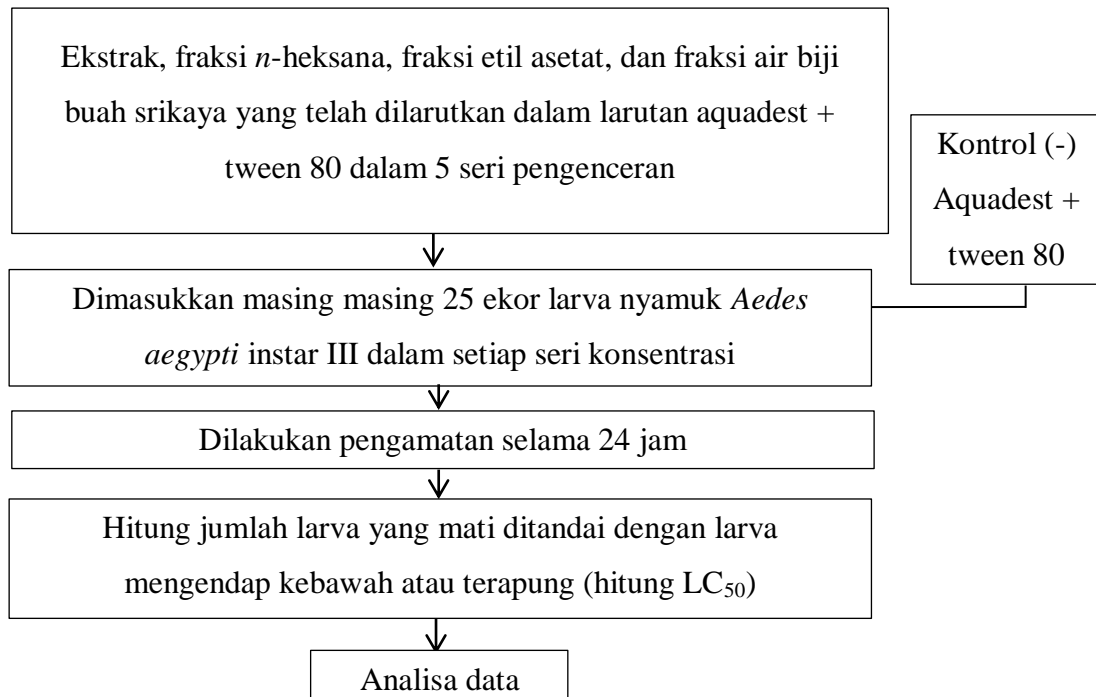
yang telah menjadi larva instar I kemudian akan mengalami tahap perkembangan menjadi larva instar II, III (\pm 4-5 hari). Larva tersebut diberi makan setiap 2 hari sekali. Setelah 4 hari dilihat ciri-cirinya untuk memastikan bahwa larva telah tumbuh mencapai instar III.

12. Preparasi sampel larutan uji

Ekstrak etanol 96% biji buah srikaya dan masing-masing fraksi yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak etanol 96% biji buah srikaya disuspensikan dalam aquadest yang telah ditambah tween 80 untuk memudahkan melarut dalam air. Larutan induk ekstrak sebesar 1 ppm dan masing-masing fraksi biji buah srikaya sebesar 50 ppm. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan menjadi 5 seri konsentrasi dalam labu takar 100 ml dengan penambahan larutan aquadest hingga tanda batas, larutan ini disebut larutan uji. Dasar dosis tersebut berdasarkan nilai LC_{50} dari penelitian sebelumnya terhadap ekstrak biji buah srikaya adalah sebesar 28,64 ppm terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III (Romianingsih & Muderawan 2015).

13. Uji aktivitas larvasida

Ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya yang telah dilarutkan dalam larutan aquadest dan telah ditambah tween 80 dalam 5 seri pengenceran kemudian dimasukkan dalam wadah plastik. Setiap seri konsentrasi dimasukkan 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, kemudian dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam larva kontak dengan larutan uji. Percobaan ini dilakukan dengan repetisi sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi. Kontrol negatif digunakan larutan tween 80 sebanyak 1 ml dan ditambah aquadest sampai 100 ml. Dihitung dan ditentukan persen mortalitas larva kemudian dicari nilai probit untuk menghitung LC_{50} . Skema uji aktivitas larvasida dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Skema uji larvasida ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya

14. Penetapan LC₅₀

LC₅₀ merupakan konsentrasi fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% biji buah srikaya yang dapat mematikan 50% larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dalam waktu 24 jam dari saat dimasukkannya larutan uji ke dalam masing-masing wadah plastik yang berisi air dan larva yang telah disiapkan. LC₅₀ masing-masing konsentrasi ditetapkan dengan menggunakan metode analisa probit.

Jumlah larva yang mati setelah 24 jam perlakuan, ditentukan persen mortalitasnya menggunakan rumus Abbot :

$$A1 = \frac{A - B}{100 - B} \times 100\%$$

Keterangan :

A1 = mortalitas terkoreksi (%)

A = jumlah hasil pengamatan pada setiap perlakuan larvasida (%)

B = mortalitas pada kontrol (Moekasan & prabaningrum 2001)

E. Analisis hasil

Data yang diperoleh dianalisis dengan metode analisa probit untuk mendapatkan harga LC_{50} . Jumlah larva yang mati dihitung dan dimasukkan dalam tabel. Data-data hasil yang telah dikelompokkan, dimasukkan tabel untuk diuji terdistribusi normal atau tidak menggunakan metode Kolmogorov smirnov, kemudian dilakukan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan antara sampel, kemudian dilanjutkan uji Mann Whitney untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antara sampel. Pengolahan data menggunakan fasilitas SPSS 17 *for Windows*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman srikaya (*Annona squamosa* L.)

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah biji buah srikaya yang telah dideterminasi di Universitas Setia Budi, Surakarta. Determinasi didasarkan dengan mencocokkan ciri morfologi terhadap kepustakaan.

Hasil determinasi berdasarkan Van Steenis : FLORA OF JAVA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 164b – 165b – 166a. Familia 50. Annonaceae. 1b – 2. Annona. 1b – 2b. *Annona squamosa* L.

Tanaman srikaya adalah tumbuhan dengan habitus pohon tinggi yang dapat mencapai 7 meter yang. Memiliki batang dengan percabangan monopodial, dengan bentuk bulat, tegak, dan berwarna coklat. Daun srikaya tunggal berbentuk bulat memanjang, panjang 10-12 cm, lebar 4-4,5 cm, ujung dan pangkal daun runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, dan daun berwarna hijau. Bunga 1-2 berhadapan atau disamping daun. Daun kelopak segitiga, waktu kuncup bersambung secara katup, kecil. Daun mahkota yang terluar berdaging tebal, panjang 2-2,5 cm, putih kekuningan. Daun mahkota terdalam sangat kecil. Dasar bunga dipertinggi. Benang sari banyak, putih. Bakal buah banyak. Kepala putik duduk, rekat menjadi satu, mudah rontok. Buah majemuk, bentuk bola, permukaan buah berbenjol-benjol. Daging buah putih. Biji tanaman srikaya berbentuk oval, ujung runcing, pangkal membulat, pada buah yang masak berwarna hitam mengkilat.

2. Pengambilan bahan

Biji buah srikaya diambil yang berwarna hitam dari buah srikaya matang yang berasal dari Kediri, Jawa Timur pada bulan Juli 2017. Biji buah srikaya dicuci bersih hingga tidak ada daging buah yang menempel lagi. Biji buah srikaya lalu dikering anginkan kemudian dioven 45°C hingga kering, untuk

mencegah tumbuhnya jamur atau proses oksidasi yang menyebabkan pembusukan dan dapat mempengaruhi kualitas dan mutu simplisia.

3. Hasil pembuatan serbuk biji buah srikaya

Biji buah srikaya yang telah kering diserbuk lalu diayak dengan ayakan no. 40. Hasil prosentase berat kering dan berat basah serbuk biji srikaya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen pengeringan biji buah srikaya

| Bobot basah (g) | Bobot kering (g) | Rendemen (%) |
|-----------------|------------------|--------------|
| 1800 | 1290 | 71,67 |

Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 71,67%. Hasil dari penyerbukan diayak dengan ayakan no.40 dengan maksud memperkecil ukuran dan memperluas luas permukaan dari simplisia agar pada saat ekstraksi larutan penyari dapat lebih mudah menembus sel simplisia untuk menyari metabolit sekunder yang diinginkan dan proses ekstrak dapat berlangsung secara optimal dan efektif.

4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan ini bertujuan untuk mengetahui berat konstan serbuk biji buah srikaya setelah dilakukan pengeringan pada suhu 105°C.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya

| | Penimbangan (g) | % Susut pengeringan |
|----|-----------------|---------------------|
| o. | 2 | 4,0 |
| | 2 | 4,3 |
| | 2 | 4,0 |
| | Rata-rata | 4,1 ± 0,173 |

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji buah srikaya diperoleh hasil rata-rata 4,1%. Hasil tersebut telah memenuhi syarat bahwa nilai 4,1% kurang dari 10%. Penetapan susut pengeringan dimaksudkan untuk mendapatkan nilai prosentase susut pengeringan simplisia sehingga dapat mencerminkan kualitas simplisia, karena jika nilai prosentase tinggi maka kelembaban simplisia juga

tinggi dan akan mempercepat pertumbuhan mikroba dan mempermudah terjadinya hidrolisa terhadap kandungan kimianya.

5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji buah srikaya

Identifikasi dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik dalam serbuk biji buah srikaya.

Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji buah srikaya

| o. | Kandungan kimia | Hasil | Pustaka |
|----|-----------------|---|---|
| | Alkaloid coklat | Dragendrof: endapan Mayer: endapan putih | Dragendrof: kekeruhan atau endapan coklat Mayer: endapan putih kekuningan (Depkes 1977) |
| | Flavonoid | Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol | Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977) |
| | Saponin | Terbentuk buih stabil setinggi 1 cm dengan penambahan asam klorida 2N | Buih mantap setinggi 1-10 cm, penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Depkes 1977). |
| | Fenolik | Terbentuk warna hijau kehitaman | terbentuk warna ungu, hijau, merah, biru atau hitam yang kuat (Robinson 1995) |

Hasil identifikasi kandungan kimia dengan reaksi warna yang telah dilakukan membuktikan bahwa serbuk biji buah srikaya positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik. Hasil identifikasi juga sesuai dengan penelitian Das *et al* (2016) yang menyatakan bahwa dalam biji buah srikaya positif mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, dan fenolik.

6. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk biji buah srikaya

Pembuatan ekstrak biji buah srikaya dilakukan dengan metode maserasi yang dilakukan pada suhu ruang selama 5 hari dengan perbandingan 1 bagian serbuk diekstraksi menggunakan 10 bagian pelarut. Maserasi dilakukan dengan menggunakan bejana kaca berwarna coklat. Prinsip metode ini adalah

menyari berdasarkan perbedaan konsentrasi antara sel pada simplisia dan pelarut. Metode ini dipilih untuk meminimalisir terjadinya kerusakan pada senyawa yang tidak tahan pemanasan. Hasil organoleptis ekstrak biji buah srikaya adalah berwarna coklat kehitaman, bau khas biji buah srikaya, dan rasanya pahit. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk biji srikaya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk biji buah srikaya

| Bobot Sampel (g) | Bobot Ekstrak (g) | Rendemen Ekstrak (%) |
|------------------|-------------------|----------------------|
| 1000 | 116,5365 | 11,65 |

7. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak biji buah srikaya

Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol biji buah srikaya dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Tujuan penetapan susut pengeringan ekstrak adalah untuk mengetahui kadar dari kandungan ekstrak yang dapat menguap dalam ekstrak. Hasil penetapan susut pengeringan yang lebih dari 10% dapat mempengaruhi mutu dari ekstrak. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol biji buah srikaya dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol biji buah srikaya

| Bobot bahan (g) | Susut Pengeringan (%) |
|-----------------|-----------------------|
| 2,04 | 5,9 |
| 2,03 | 5,9 |
| 2,02 | 5,4 |
| Rata-rata | 5,73±0,289 |

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan pada ekstrak biji buah srikaya diperoleh 5,73%, kurang dari 10%, yang berarti bahwa ekstrak biji buah srikaya memenuhi syarat standarisasi ekstrak.

8. Hasil tes bebas etanol ekstrak biji buah srikaya

Tes bebas etanol ekstrak biji buah srikaya dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Tujuan tes ini adalah untuk memastikan bahwa selama proses penguapan tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada karena dapat mempengaruhi hasil dari penelitian. Tes bebas etanol dilakukan dengan penambahan asam asetat dan asam sulfat pada ekstrak kemudian dipanaskan, saat pemanasan dilakukan pembauan, jika tercium bau ester maka

masih terdapat sisa etanol dalam ekstrak namun jika tidak ada bau ester maka tidak ada sisa etanol dalam ekstrak. Hasil pada tes ini adalah tidak adanya bau ester sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak bebas dari pelarut etanol.

9. Hasil fraksinasi ekstrak etanol biji buah srikaya

Ekstrak kental biji buah srikaya ditimbang 10 gram lalu dilarutkan dengan menggunakan etanol 5 ml agar ekstrak melarut sempurna dan tidak menggumpal sebelum ditambah 75 ml aquadest, kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana 75 ml menggunakan corong pisah. *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar yang dapat menyari senyawa-senyawa nonpolar, seperti triterpenoid atau steroid. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat 75 ml, fraksinasi juga dilakukan sebanyak 3 kali. Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat menyari beberapa senyawa yang juga bersifat semipolar, contohnya flavonoid atau tanin.

Residu hasil partisi dari etil asetat kemudian diuapkan menjadi fraksi pekat air. Air merupakan pelarut polar yang dapat menyari beberapa metabolit sekunder tanaman yang juga bersifat polar, contohnya flavonoid, gula, glikosida, atau polifenol. Hasil fraksinasi ekstrak biji buah srikaya ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil fraksinasi ekstrak biji buah srikaya

| Fraksi | Bobot Fraksi (g) | Rendemen (%) |
|--------------------|---------------------|--------------|
| <i>n</i> - Heksana | 1,4635 | 14,64 |
| Etil asetat | 2,1077 | 21,08 |
| Air | 6,4198 | 64,19 |

Fraksi air diperoleh rendemen yang paling besar yang berarti bahwa biji buah srikaya banyak mengandung senyawa polar. Kandungan senyawa biji buah srikaya berdasarkan polaritasnya berturut-turut dari yang terbesar kadarnya adalah bersifat polar, semipolar, dan nonpolar.

10. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya dilakukan dengan reaksi warna menggunakan reagen atau pereaksi tertentu untuk menimbulkan suatu warna atau endapan yang dapat digunakan sebagai tanda

adanya senyawa kimia tertentu di dalam ekstrak atau fraksi biji buah srikaya. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya

| Senyawa | Ekstrak | Fraksi <i>n</i> -heksana | Fraksi etil asetat | Fraksi air | Pustaka |
|-----------|---|--|---|---|--|
| Saponin | (+) Terbentuk buih dan buih tidak hilang saat ditambah HCl 2N | (+) Terbentuk buih dan buih tidak hilang saat ditambah HCl 2N | (+) Terbentuk buih dan buih tidak hilang saat ditambah HCl 2N | (-) Tidak terbentuk buih yang mantap | Buih mantap setinggi 1-10 cm, penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang |
| Alkaloid | (+) Dragendorf: endapan coklat Mayer: endapan putih | (+) Dragendorf: endapan coklat Mayer: endapan putih | (+) Dragendorf: endapan coklat Mayer: endapan putih | (+) Dragendorf: endapan coklat Mayer: endapan putih | Dragendorf: kekeruhan atau endapan coklat Mayer: endapan putih kekuningan |
| Flavonoid | (+) Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol | (-) Tidak terbentuk warna jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol | (+) Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol | (+) Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol | Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol |
| Fenolik | (+) Terbentuk warna hijau | (-) Tidak terbentuk warna hijau | (+) Terbentuk warna hijau | (+) Terbentuk warna hijau | terbentuk warna ungu, hijau, merah, biru atau hitam yang kuat |

Hasil identifikasi di atas menunjukkan bahwa ekstrak biji buah srikaya mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan senyawa fenolik yang dibuktikan dengan adanya reaksi warna spesifik, Pada penelitian Das *et al* (2016) juga membuktikan bahwa pada ekstrak biji srikaya terdapat senyawa-senyawa tersebut. Pada fraksi biji buah srikaya kandungan senyawanya tergantung pada polaritas. Fraksi *n*-heksana mengandung senyawa saponin dan alkaloid, saponin yang terdapat pada fraksi *n*-heksana dimungkinkan karena strukturnya yang terikat dengan aglikon sehingga bersifat nonpolar. Fraksi etil asetat mengandung semua komponen yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan fenolik, hal ini dimungkinkan bahwa kebanyakan struktur dari senyawa-senyawa tersebut bersifat semi polar sehingga banyak diantaranya yang terlarut pada fraksi etil asetat. Fraksi air

mengandung fenolik, alkaloid, dan flavonoid yang strukturnya bersifat polar sehingga terlarut dalam fraksi air.

11. Hasil preparasi sampel larutan uji

Preparasi sampel adalah dilakukannya pembuatan larutan stok ekstrak sebesar 1 ppm dan masing-masing fraksi biji buah srikaya sebesar 50 ppm. Larutan induk kemudian diencerkan menjadi 5 seri konsentrasi untuk pengujian larvasida. Volume yang diambil dari larutan induk untuk seri konsentrasi ditunjukkan pada lampiran 8.

12. Hasil uji aktivitas larvasida

Uji aktivitas larvasida dilakukan pada ekstrak etanol pada konsentrasi 1 ppm, 0,4 ppm, 0,16 ppm, 0,064 ppm, dan 0,0256, fraksi *n*-heksana pada konsentrasi 8 ppm, 4 ppm, 2 ppm, 1 ppm, dan 0,5 ppm, fraksi etil asetat pada konsentrasi 6,4 ppm, 3,2 ppm, 1,6 ppm, 0,8 ppm, dan 0,4 ppm, sedangkan pada fraksi air biji buah srikaya pada konsentrasi 30 ppm, 15 ppm, 7,5 ppm, 3,75 ppm, dan 1,875 ppm. Adapun media pelarut yang digunakan adalah akuades ditambah tween 80 sebagai agen suspensi. Ekstrak dan masing-masing fraksinya diujikan terhadap larva *Aedes aegypti* instar III. Pemilihan instar III sebagai fase uji karena pada instar III larva aktif mencari makan dan bentuk morfologinya telah sempurna jika dibandingkan dengan instar I dan II. Kontrol negatif digunakan dalam uji aktivitas larvasida untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap kematian larva.

Tabel 9. Hasil uji larvasida ekstrak etanol biji buah srikaya

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah larva yang mati selama 24 jam | | |
|----------------------|--------------------------------------|----|-----|
| | Repetisi | | |
| | I | II | III |
| 1 | 22 | 22 | 21 |
| 0,4 | 18 | 18 | 16 |
| 0,16 | 15 | 14 | 14 |
| 0,064 | 10 | 10 | 9 |
| 0,0256 | 5 | 3 | 3 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 |

Tabel 10. Hasil uji larvasida fraksi *n*-heksana biji buah srikaya

| Jumlah larva yang mati selama 24 jam | | | |
|--------------------------------------|----------|----|-----|
| Konsentrasi (ppm) | Repetisi | | |
| | I | II | III |
| 8 | 19 | 20 | 20 |
| 4 | 16 | 16 | 15 |
| 2 | 12 | 13 | 13 |
| 1 | 8 | 8 | 8 |
| 0,5 | 3 | 3 | 5 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 |

Tabel 11. Hasil uji larvasida fraksi etil asetat biji buah srikaya

| Jumlah larva yang mati selama 24 jam | | | |
|--------------------------------------|----------|----|-----|
| Konsentrasi (ppm) | Repetisi | | |
| | I | II | III |
| 6,4 | 21 | 22 | 22 |
| 3,2 | 18 | 16 | 16 |
| 1,6 | 14 | 12 | 12 |
| 0,8 | 10 | 9 | 9 |
| 0,4 | 4 | 3 | 4 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 |

Tabel 12. Hasil uji larvasida fraksi air biji buah srikaya

| Jumlah larva yang mati selama 24 jam | | | |
|--------------------------------------|----------|----|-----|
| Konsentrasi (ppm) | Repetisi | | |
| | I | II | III |
| 30 | 22 | 21 | 22 |
| 15 | 17 | 19 | 17 |
| 7,5 | 12 | 13 | 12 |
| 3,75 | 9 | 7 | 7 |
| 1,875 | 3 | 1 | 2 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 |

Kematian larva pada kontrol negatif adalah 0, sehingga dapat diartikan bahwa pelarut aquadest dan tween 80 yang digunakan dalam sampel tidak mempengaruhi hasil uji larvasida dari sampel karena tidak mematikan larva *Aedes aegypti* instar III.

Hasil dari uji aktivitas larvasida kemudian ditetapkan nilai LC_{50} tiap sampel untuk menjadi suatu tolak ukur bahwa suatu sampel mempunyai daya larvasida yang poten atau tidak. Nilai LC_{50} ditetapkan menggunakan metode analisa probit menggunakan SPSS 17 *for windows*, hasil penetapan LC_{50} dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil penetapan nilai LC₅₀

| Sampel | Nilai LC ₅₀ (ppm) | | | Rata-rata±SD |
|--------------------------|------------------------------|-------|-------|--------------|
| | I | II | III | |
| Ekstrak | 0,113 | 0,132 | 0,144 | 0,130±0,016 |
| Fraksi <i>n</i> -heksana | 2,378 | 2,040 | 2,282 | 2,233±0,174 |
| Fraksi etil asetat | 1,368 | 1,626 | 1,806 | 1,600±0,220 |
| Fraksi air | 7,374 | 8,470 | 7,644 | 7,829±0,571 |

Tabel 13 menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ ekstrak dan ketiga fraksi biji buah srikaya di bawah 10 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa biji buah srikaya termasuk dalam kategori toksisitas tinggi sebagai larvasida nabati, khususnya pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Hasil penetapan nilai rata-rata LC₅₀, ekstrak etanol biji buah srikaya menunjukkan bahwa kemampuannya sebagai larvasida lebih poten jika dibandingkan dengan ketiga fraksinya, yang dibuktikan dengan nilai LC₅₀ yang terkecil, hal ini dapat terjadi karena seluruh komponen atau seluruh metabolit sekunder masih terdapat di dalam ekstrak dan belum terpisah menurut polaritasnya seperti pada ketiga fraksinya sehingga semua senyawa baik polar, semipolar, ataupun senyawa nonpolar saling melengkapi dan bersifat sinergis, yang masing-masing dari metabolit sekunder yang terdapat pada biji srikaya saling mendukung satu sama lain pada mekanisme yang berbeda sehingga menyebabkan kematian larva yang pada konsentrasi yang kecil telah mampu bersifat toksik atau mematikan larva. Hasil LC₅₀ fraksi biji buah srikaya lebih rendah daripada ekstrak karena pada fraksi senyawa yang terkandung dalam biji buah srikaya telah terpisah-pisah menurut polaritasnya. Fraksi air memiliki nilai LC₅₀ paling jelek karena pada fraksi air semua senyawanya bersifat polar, sedangkan untuk berefek sebagai larvasida senyawa harus masuk dalam tubuh larva yang mana membran sel tersusun atas lemak yang kurang permeable dengan senyawa polar, sehingga efek yang ditimbulkan dari fraksi air lebih kecil dibandingkan dengan fraksi yang lain.

Mekanisme kerja larvasida dari senyawa-senyawa dalam ekstrak dan fraksi biji buah srikaya memegang peranan masing-masing sebagai larvasida. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan serta dapat menyebabkan ketoksikan pada sel insektisida karena bersifat iritan (Geyter

et al 2007), alkaloid sebagai penghambat pencernaan makanan dan menurunkan proses perkembangan dari larva melalui penghambatan pada *growth-stimulating* (Saxena 1992), flavonoid sebagai racun pernafasan menyerang mitokondria, dan fenolik sebagai inhibitor pencernaan, dari beberapa mekanisme yang berbeda tersebut semua senyawa dapat menyebabkan kematian dari larva *Aedes aegypti* instar III.

Ekstrak etanol memiliki nilai LC_{50} yang terbaik dibandingkan dengan ketiga fraksinya yaitu sebesar 0,130 ppm dengan kategori sangat toksik menurut komisi peptisida nasional, sehingga ekstrak biji buah srikaya mampu bersaing dengan produk larvasida kimia, salah satunya adalah Abate. Abate adalah larvasida jenis organofosfat yang sangat sering digunakan oleh masyarakat sekarang, namun penggunaannya dapat mengakibatkan residu yang sukar dihilangkan dan dapat mempengaruhi organisme non-target serta berbahaya bagi lingkungan dan masyarakat jika dosis yang digunakan salah. Pada penelitian Artha (2012) nilai LC_{50} Abate adalah sebesar 0,3 ppm pada daerah endemik DBD dan menurut penelitian dari Fuadzi *et al.* (2015) LC_{50} Abate pada daerah endemik DBD di daerah Sukabumi adalah sebesar 0,00169 ppm. Berdasarkan dari penelitian tersebut maka ekstrak etanol biji buah srikaya dengan nilai LC_{50} sebesar 0,130 ppm mampu bersaing dan mampu menjadi alternatif dari abate.

13. Analisis hasil

Analisa hasil dilakukan menggunakan metode Kruskal Wallis. Metode Kruskal Wallis adalah metode statistik non parametrik untuk menguji adanya perbedaan atau varian dari beberapa sampel. Pada analisa ini dibandingkan nilai rata-rata LC_{50} dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Data nilai rata-rata LC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air diuji distribusi normalnya menggunakan uji Kolmogorov smirnov, diperoleh hasil signifikansi sebesar $0,161 > 0,05$ yang berarti data tersebut mengikuti distribusi normal.

Uji homogenitas varian juga dilakukan untuk menguji perbedaan varian antar sampel menggunakan metode *Lavene statistic*. Nilai probabilitas *Lavene statistic* adalah $0,027 < 0,05$ yang berarti bahwa H_0 ditolak. Kesimpulannya

adalah bahwa setiap sampel uji mempunyai varian yang berbeda. Karena pada uji sampel tidak mempunyai variasi yang sama maka dilanjutkan uji non parametrik menggunakan uji Kruskal wallis.

Uji Kruskal Wallis diperoleh hasil signifikansi adalah $0.016 < 0,05$ sehingga keputusannya adalah H_0 ditolak yang artinya masing-masing sampel uji menunjukkan adanya perbedaan, sehingga antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan adanya perbedaan pada nilai rata-rata LC_{50} .

Uji Mann Whitney digunakan setelah uji Kruskal Wallis, uji ini dilakukan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antar sampel. Pada uji Mann Whitney diperoleh hasil signifikansi 0,05 antara ekstrak dengan fraksi *n*-heksana, ekstrak dengan fraksi etil asetat, ekstrak dengan fraksi air, fraksi *n*-heksana dengan fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana dengan fraksi air, dan yang terakhir fraksi etil asetat dengan fraksi air. Karena 0,05 tidak lebih dari 0,05 maka H_0 ditolak yang artinya bahwa antara nilai rata-rata LC_{50} ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air berbeda signifikan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan :

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji buah srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Kedua, nilai LC₅₀ ekstrak etanol sebesar 0,130 ppm, fraksi etil asetat sebesar 1,600 ppm, fraksi *n*-heksana 2,233 ppm, dan pada fraksi air 7,829 ppm.

Ketiga, ekstrak etanol biji buah srikaya mempunyai aktivitas larvasida yang paling efektif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, dibuktikan dengan nilai LC₅₀ terkecil.

B. Saran

1. Perlu dilakukan formulasi yang tepat untuk membuat suatu sediaan dari ekstrak biji buah srikaya sebagai produk larvasida.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas ekstrak biji buah srikaya untuk menilai keamanan penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnetha AY. 2010. Efek Ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L) sebagai larvasida nyamuk *Aedes sp* [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Aminah ST *et al* 2001. S. larak, D.metel, dan E. Prostata sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. Cermin Dunia Kedokteran. hlm 7 – 9.
- Anderson JE, Goetz CM., Mc Laughlin J L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. Amsterdam: *Natural Product Chemistry*.
- Atmowidi T. 2003. Mengapa ditemukan Anomali Keragaman pada Serangga. Makalah Falsafah Sains. Bogor: Institut Pertanian Bogor. <http://rudycr.com/PPS702-ipb/07134/atmowidi.htm>. [15 Juli 2017]
- Andarwulan N, Batari R, Sandasari DA, Bolling B. 2010. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables From Indonesia. *Food Chemistry Journal* 121:1231-1235.
- Ardiansyah, Nuraida, Andarwulan N. 2003. Aktivitas antimikroba ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica*. L) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat ph. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 14:8.
- Artha AF. 2012. Perbedaan kerentanan larva *Ae. Aegypti* daerah endemis tinggi dan endemis rendah demam berdarah dengue terhadap larvasida Abate 1 SG (Temephos 1%). *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 1(2):228-240
- Biren S, Nayak BS. 2007. Search for Medicinal Plants as Aorce of Antiinflammatory and Anti-Arthitic, Agents-A Review. *Pharmacognozy Magazine* 6:77-86.
- Cania E, Setyaningrum E. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daunlegudi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti* L. *Medical Journal of Lampung University* 2:53-54.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 38:99-107.
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Trubus Agriwidya. hlm18-21.
- Daniel. 2008. Ketika larva dan nyamuk dewasa sudah kebal terhadap insektisida. *Farmacia* 7:7.

- Das *et al* *Analytical and phytochemical exploration of the seeds of Annona squamosa*. 2016. *J Anal Pharm Res* 3:00065
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika* Jilid I. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 7.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 7.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 1-7.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 8-11.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia 1995. *Materia Medika Jilid VI*. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 119-12.
- [Depkes]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Materia Medika Indonesia*, jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 301-304.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Suplemen III edisi I. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. hlm 10.
- [Depkes]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 2016. Wilayah KLB DBD ada di 11 Provinsi. Departemen kesehatan Republik Indonesia. http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiypLv7IPUAhWJi5QKHQKiCYwQFggI_MAA&url=http%3A%2F%2Fwww.depkes.go.id%2Farticle%2Fprint%2F16030700001%2Fwilayah-klb-dbd-ada-di-11provinsi.html&usg=AFQjCNFkLBWUqZXftdbtNQd3HnHEixZw&sig2=2fpZfBXwLPBvPhAz3LGew [23 Feb 2017]
- Florensia I. J. Lauwrens, G. J. Wahongan, J. B Bernadus. 2014. Pengaruh dosis abate terhadap jumlah populasi jentik nyamuk *Aedes spp* di kecamatan Malalayang kota Manado. *Jurnal E-Biomedik* 2(1).
- Fuadzi H, Hodijah DN, Jajang A, Widawati M. 2015. Kerentanan larva *Aedes aegypti* terhadap Temefos di tiga kelurahan endemis demam berdarah dengue Kota Sukabumi. *Buletin Penelitian Kesehatan* 43(1):41-46

- Gandahusada S, Pribadi W, Ilahude HD (eds). 1998. Parasitologi Kedokteran. Gaya Baru. Jakarta. hlm: 221-224, 236-238.
- Geyter E, Lambert E, Geelen D, Smaghe G. 2007. Novel advances with plant saponins as natural insecticides to control pest insects. *Pest Tech* 1:96-105.
- Hanim D. 2013. *Program Pengendalian Penyakit Menular : Demam Berdarah Dengue* [Field LAB]. Surakarta : Fakultas Kedokteran. UNS.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Sudiro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. hlm 70-76, 103,106.
- Hariana A. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haditomo I. 2010. Efek larvasida ekstrak daun cengkeh (*SyzygiumAromaticum* L.) terhadap *Aedes aegypti* L [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (*Piperis retrofractifructus*) [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Jirakanjanakit N, Dujardin JP. 2005. Discrimination of aedes aegypti (diptera: culicidae) laboratory lines based on wing geometry. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 36:858-861.
- 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.
- Marliana E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll&Moritzi) benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA* 1:23-29.
- [Moekasan TK dan Prabaningrum L. 2001. Stat RIV 2.0: Program komputer pengolahan data untuk analisis probit dan petunjuk penggunaannya. balai penelitian hortikultura. bandung. Monografi No. 22. ISBN: 979-8304-36-5](#)
- Munif A. 2007. Pengaruh *B. thuringiensis* H-14 formula tepung padaberbagai instar larva *Aedes aegypti* di laboratorium. *Cermin DuniaKedokteran* 119: 14-17.
- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Agro Media Pustaka. Jakarta. hlm: 37-40.

- Nursal, Pasaribu N. 2003. Indeks nutrisi larva instar V *Heliothis Armigera Hubner* pada makanan yang mengandung ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora Mucronata* Lamk.) dan temperatur yang berbeda. Universitas Sumatera Utara. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/biologi-nursal.pdf>. [15 Juli 2017]
- Praeparandi. 1978. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung. Seksi Diktat Stenhl. hlm: 9.
- Prastowo, Andri E. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Pribadi IS. 2013. Pengaruh ekstrak ethanol daun pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) terhadap mortalitas larva instar IV nyamuk *Aedes aegypti* (Linn) [Skripsi]. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Pujowati, Penny. 2006. Pengenalan ragam tanaman lanskap *Asteraceae* (*Compositae*) [Tesis]. Bogor : Departemen Arsitektur Lanskap Fakultas Pertanian. ITB.
- Raharjo B. 2006. Uji kerentanan (*Susceptibility test*) *Aedes aegypti* (Linnaeus) dari Surabaya, Palembang dan beberapa wilayah di Bandung terhadap larvasida temephos (Abate 1 SG) [Skripsi]. Bandung : Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati. ITB. Sudarto. 2002. Atlas Entomologi Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Rasmehuli. 1986. Pemeriksaan minyak atsiri dan flavonoid dari daun beluntas (*Pluchea indica* less) [Skripsi]. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Razak A, Roslida AK, Erazuliana, Ahmad, Zuraini. 2008. *Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the ethanolic extract of Pluchea indica (L) less leaf*. *Pharmacologyonline* 2:349-360
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah; Sutomo T, editor. Bandung: ITB.
- Rochmat A, Bahiyah Z, Adianti MF. 2016. Pengembangan biolarvasida jentik nyamuk *Aedes aegypti* berbahan aktif ekstrak beluntas (*Pluchea indica*). *Reaktor* 16(3):103-108.
- Romianingsih N P, Muderawan I W. 2015. Aktivitas larvasida ekstrak etanol biji srikaya (*Annona squamosa*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Proceedings Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA V Tahun 2015*.
- Runia Y. 2008. Faktor-faktor yang berhubungan dengan keracunan pestisida organofosfat, karbamat, dan kejadian anemia pada petani hortikultura di Desa Tejosari Kecamatan Ngablak Kabupaten Magelang [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Roqib FMI, Purwani KI. 2015. Pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Spodoptera litura*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS* 4(2):2337-3520.
- Satria W, Prastyowati H. 2012. Daya larvasida ekstrak biji srikaya (*Annona Squamosa*) dengan rentang waktu penyimpanan yang berbeda terhadap Larva *Culex quinquefasciatus*. *Aspirator* 4:21-26
- Saxena, A. & R. C. Saxena. 1992. Effect of Ageratumconyzoides extract on the developmental stages of malaria vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *J Environ Biol* 13:207-20
- Sirait N. 2008. Penggunaan berbagai jenis tanaman obat untuk menghilangkan bau badan. *Jurnal Potensi Ekonomi Tanaman Obat Sebagai Bahan Baku Jamu* 14: 0853-8204.
- Siregar FA. 2004. Epidemiologi dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia <http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/129/jhptunimus-gdl-andykurnia-6440-4-daftarp-a.pdf> [17 Maret 2017]
- Soegijanto S. 20016. *Demam Berdarah Dengue Edisi kedua*. Airlangga UniversityPress. Surabaya.
- Sovia Lenny. 2006. Senyawa flavonoid, fenil propanoida dan alkaloida [KTI].Medan : Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Spencer, Jeremy, P.E. 2008. Flavonoids: modulators of brain function. *British Journal of Nutrition* 99:60-77.
- Sudarto. 2002. *Atlas Entomologi Kedokteran*. Jakarta. EGC.
- Suhendro *et al* 2006. *Demam Berdarah Dengue*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam edisi 4. Jakarta : Balai Penerbit FKUI. hlm 1709-1710.
- Sumarmo S.P.S. 1983. *Demam Berdarah Dengue pada Anak*. UI Press. Jakarta. hlm: 56.
- Sungkar S. 2005. Bionomik *Aedes aegypti*, vektor demam berdarah dengue. *Majalah Kedokteran Indonesia*. vol 55: 384.
- 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.

- Suyanto F. 2009. Efek Larvasida ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap larva *Aedes aegypti* L [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Taslimah. 2014. Uji efikasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) sebagai bioinsektisida dalam upaya *integrated* vektor management terhadap *Aedes aegypti* [SKRIPSI]. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2007. Larvasides for Mosquito Control.
- Utami, Rina Silvia. 2011. Uji efikasi insektisida abate terhadap angka kematian, fekunditas, fertilitas, dan daya hidup larva instar iii nyamuk *Aedes Aegypti* (Linn) Di Laboratorium [Skripsi]. Universitas Diponegoro.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah: Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*. hlm 570-571.
- WHO. 2005. International Programme on Chemical Safety. Temephos.
- Williamson, G. 2004. *common features in the pathways of absorption and metabolism of flavonoids*. Boca Raton. CRC Press: 21-33.

L

A

M

P

I

R

A

N

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman srikaya



No : 196/DET/UPT-LAB/27/VII/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Riska Fridanesti
NIM : 20144297 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Srikaya / *Annona squamosa* L.**

Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163a – 164b – 165b – 166a. Familia 50. Annonaceae. 1b – 2. Annona. 1b – 2b. *Annona squamosa* L.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 7 meter.

Batang : Percabangan monopodial, bulat, tegak, berwarna coklat.

Daun : Tunggal, bangun bulat memanjang, panjang 10-12 cm, lebar 4-4,5 cm, ujung daun runcing, pangkal daun runcing, tepi daun rata, tulang daun menyirip, warna hijau.

Bunga : Bunga 1-2 berhadapan atau disamping daun. Daun kelopak segitiga, waktu kuncup bersambung secara katup, kecil. Daun mahkota yang terluar berdaging tebal, panjang 2-2,5 cm, putih kekuningan. Daun mahkota terdalam sangat kecil. Dasar bunga dipertinggi. Benangsari banyak, putih. Bakal buah banyak. Kepala putik duduk, rekat menjadi satu, mudah rontok.

Buah : Majemuk, bentuk bola, permukaan buah berbenjol-benjol. Daging buah putih.

Biji : Oval, ujung runcing, pangkal membulat, masak hitam mengkilat.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 27 Juli 2017

Tim determinasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan telur *Aedes aegypti*



PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN

Jl. Jend. A. Yani No.118 Telp. 8280356 – 8280660 – 8280713 Fax (031) 8290423 Surabaya 60231

SURAT KETERANGAN

Nomor : 097/ 038 /102.3/X/2017

Yang bertanda tangan dibawah ini kami :

Nama : A. Hasan Huda, SKM. MSi

N I P : 19630606 198503 1 019

Jabatan : Kepala Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur

Dengan ini menerangkan bahwa :

N a m a : Riska Fridanesti

N I M : 20144297A

Status : Mahasiswa ProgdI S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setiabudi Surakarta

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Larvasida Ekstak Etanol, Fraksi n-Heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Biji Srikaya (*Annona squamosa L.*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*.

Bahwa mahasiswa tersebut dalam penelitiannya menggunakan telur *Aedes aegypti* sebanyak 1600 butir yang dibiakkan di Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenarnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 23 Oktober 2017

LABORATORIUM ENTOMOLOGI
DINAS KESEHATAN PROVINSI
JAWA TIMUR

LABORATORIUM
ENTOMOLOGI
DINAS KESEHATAN
JAWA TIMUR

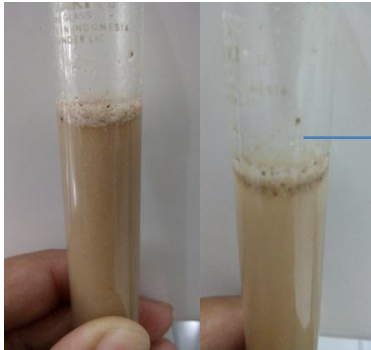
A. Hasan Huda, SKM. MSi.
NIP : 19630606 198503 1 019

Lampiran 3. Gambar buah, biji, dan serbuk biji buah srikaya



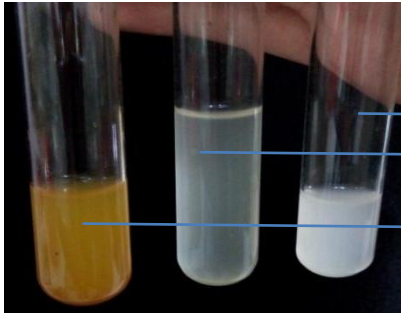
Lampiran 4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk biji buah srikaya

Identifikasi saponin menggunakan uji busa



Setelah pemberian
HCl 2N

Identifikasi alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendroff



Keterangan :

A : Pembanding

B : Hasil setelah ditetesi reagen Mayer

C : Hasil setelah ditetesi reagen Dragendroff

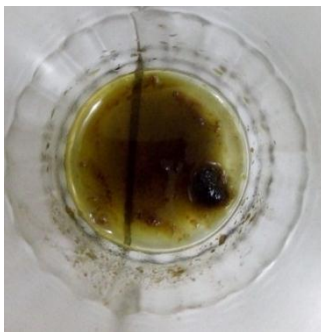
Identifikasi flavonoid dengan menggunakan metode shinoda



Identifikasi senyawa fenolik dengan menggunakan pereaksi FeCl_3



Lampiran 5. Gambar ekstrak etanol dan fraksi biji buah srikaya



Fraksi *n*-heksana



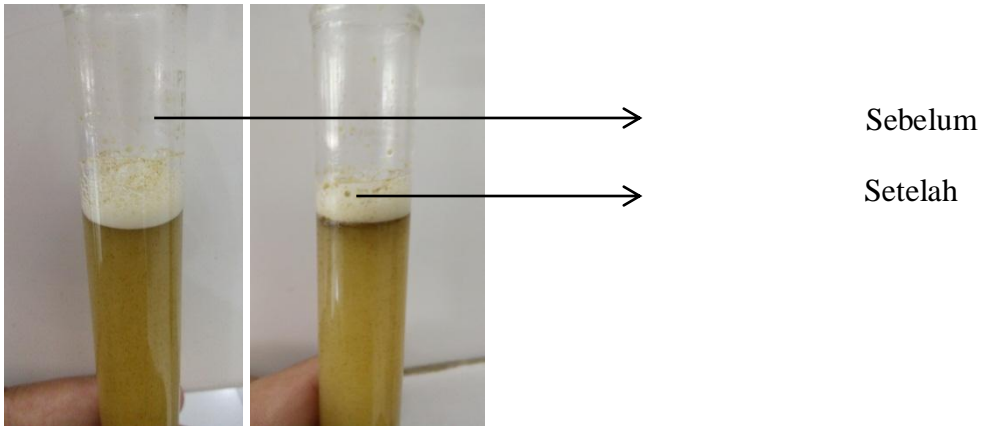
Fraksi etil asetat



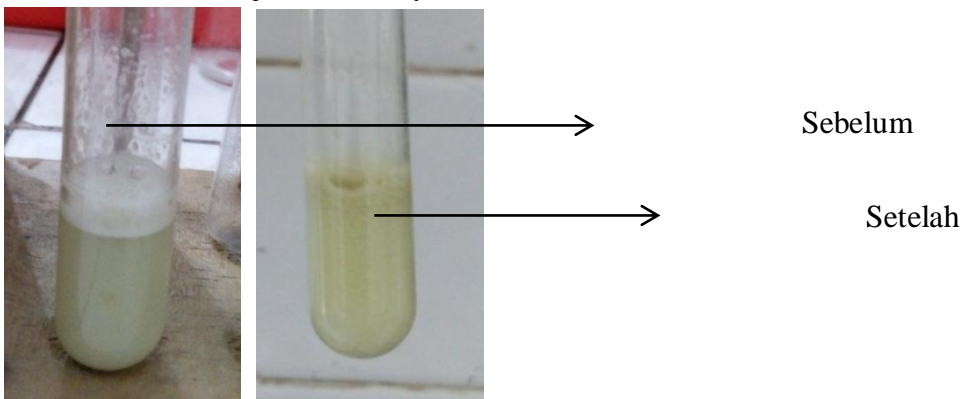
Fraksi air

Lampiran 6. Gambar hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi biji buah srikaya

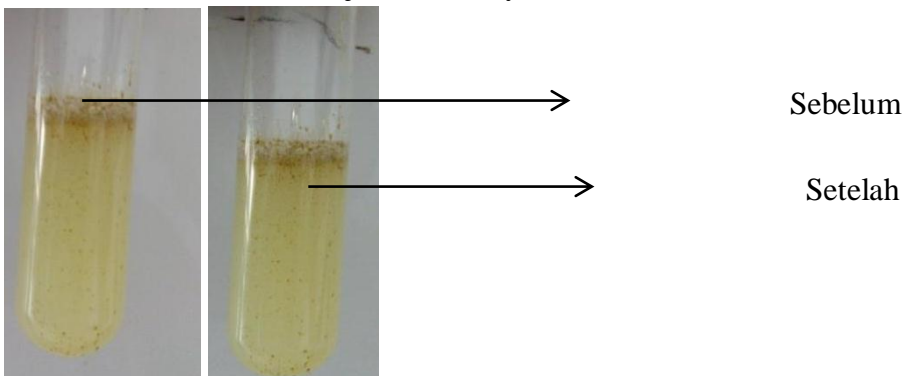
Identifikasi saponin dengan uji busa
Ekstrak etanol biji buah srikaya



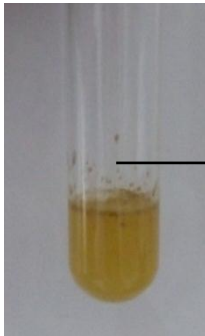
Fraksi n-heksana biji buah srikaya



Fraksi etil asetat ekstrak biji buah srikaya

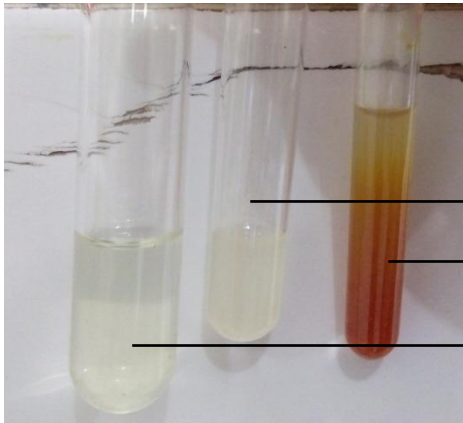


Fraksi air ekstrak biji buah srikaya



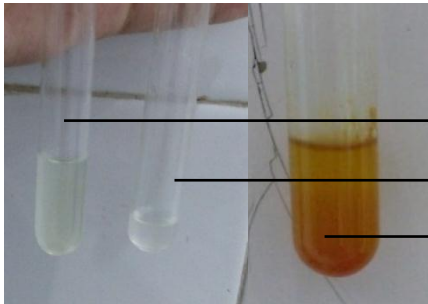
Tidak

Identifikasi alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendroff
Ekstrak etanol biji buah srikaya

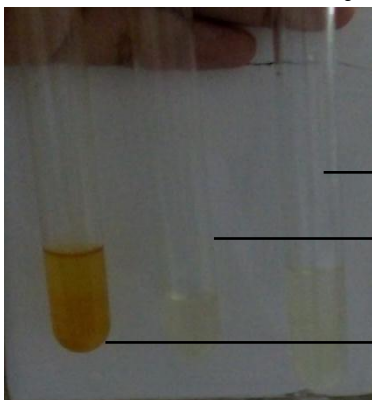


B

Fraksi *n*-heksana ekstrak biji buah srikaya



Fraksi etil asetat ekstrak biji buah srikaya



B

Fraksi air ekstrak biji buah srikaya

Keterangan :

A : Perbandingan

B : Hasil setelah ditetesi reagen Mayer

C : Hasil setelah ditetesi reagen Dragendorff

Identifikasi flavonoid dengan uji shinoda

Ekstrak etanol biji buah srikaya

Fraksi biji buah srikaya

Identifikasi senyawa fenolik menggunakan pereaksi FeCl_3

Ekstrak etanol biji buah srikaya

Fraksi biji buah srikaya

Lampiran 7. Gambar larutan stok ekstrak dan fraksi biji buah srikaya

Larutan stok ekstrak

Larutan stok fraksi *n*-heksana

Larutan stok fraksi etil asetat

Larutan stok fraksi air

Lampiran 8. Perhitungan pengambilan larutan stok

Ekstrak etanol : larutan stok 1 ppm dalam 500 ml

| Konsentrasi larutan uji (ppm) | Volume yang diambil dari larutan induk (ml) | Volume tiap konsentrasi (ml) |
|-------------------------------|---|------------------------------|
| 1 | 100 | 100 |
| 0,4 | 40 | 100 |
| 0,16 | 16 | 100 |
| 0,064 | 6,4 | 100 |
| 0,0256 | 2,56 | 100 |

Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 1 = V_2 \times 100$$

$$V_2 = 100 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,4 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,4 = V_2 \times 1$$

$$V_2 = 40 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,16 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,16 = V_2 \times 1$$

$$V_2 = 16 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,064 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,064 = V_2 \times 1$$

$$V_2 = 6,4 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,0256 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,0256 = V_2 \times 1$$

$$V_2 = 2,56 \text{ ml}$$

Frakasi *n*-heksana : larutan stok 50 ppm dalam 100 ml

| Konsentrasi larutan uji (ppm) | Volume yang diambil dari larutan induk (ml) | Volume tiap konsentrasi (ml) |
|-------------------------------|---|------------------------------|
| 8 | 16 | 100 |
| 4 | 8 | 100 |
| 2 | 4 | 100 |
| 1 | 2 | 100 |
| 0,5 | 1 | 100 |

Konsentrasi 8 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 8 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 16 \text{ ml}$$

Konsentrasi 4 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 4 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 8 \text{ ml}$$

Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 2 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 4 \text{ ml}$$

Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 1 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 2 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,5 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,5 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Fraksi etil asetat : larutan stok 50 ppm dalam 100 ml

| Konsentrasi larutan uji (ppm) | Volume yang diambil dari larutan induk (ml) | Volume tiap konsentrasi (ml) |
|-------------------------------|---|------------------------------|
| 6,4 | 12,8 | 100 |
| 3,2 | 6,4 | 100 |
| 1,6 | 3,2 | 100 |
| 0,8 | 1,6 | 100 |
| 0,4 | 0,8 | 100 |

Konsentrasi 6,4 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 6,4 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 12,8 \text{ ml}$$

Konsentrasi 3,2 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 3,2 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 6,4 \text{ ml}$$

Konsentrasi 1,6 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 1,6 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 3,2 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,8 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,8 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 1,6 \text{ ml}$$

Konsentrasi 0,4 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,4 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 0,8 \text{ ml}$$

Fraksi etil asetat : larutan stok 50 ppm dalam 500 ml

| Konsentrasi larutan uji (ppm) | Volume yang diambil dari larutan induk (ml) | Volume tiap konsentrasi (ml) |
|-------------------------------|---|------------------------------|
| 30 | 60 | 100 |
| 15 | 30 | 100 |
| 7,5 | 15 | 100 |
| 3,75 | 7,5 | 100 |
| 1,875 | 3,75 | 100 |

Konsentrasi 30 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 30 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 60 \text{ ml}$$

Konsentrasi 15 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 15 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 30 \text{ ml}$$

Konsentrasi 7,5 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 7,5 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 15 \text{ ml}$$

Konsentrasi 3,75 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 3,75 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 7,5 \text{ ml}$$

Konsentrasi 1,875 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 1,875 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 3,75 \text{ ml}$$

Lampiran 9. Gambar larva instar III dan uji larvasida

Uji larvasida pada ekstrak biji buah srikaya

Uji larvasida pada fraksi *n*-heksana biji buah srikaya

Uji larvasida pada fraksi etil asetat biji buah srikaya

Uji larvasida pada fraksi air biji buah srikaya

Lampiran 10. Penetapan nilai LC50
Ekstrak etanol biji buah srikaya replikasi I

Confidence Limits

| Probabil ity | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-----------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .001 | .000 | .036 | -2.862 | -25.073 | -1.444 |
| .020 | .002 | .000 | .048 | -2.638 | -23.166 | -1.322 |
| .030 | .003 | .000 | .057 | -2.496 | -21.957 | -1.244 |
| .040 | .004 | .000 | .065 | -2.389 | -21.047 | -1.185 |
| .050 | .005 | .000 | .073 | -2.302 | -20.307 | -1.137 |
| .060 | .006 | .000 | .080 | -2.228 | -19.677 | -1.097 |
| .070 | .007 | .000 | .087 | -2.163 | -19.125 | -1.061 |
| .080 | .008 | .000 | .094 | -2.105 | -18.631 | -1.029 |
| .090 | .009 | .000 | .100 | -2.052 | -18.182 | -.999 |
| .100 | .010 | .000 | .107 | -2.003 | -17.768 | -.972 |
| .150 | .016 | .000 | .138 | -1.801 | -16.056 | -.860 |
| .200 | .023 | .000 | .170 | -1.641 | -14.696 | -.770 |
| .250 | .031 | .000 | .203 | -1.504 | -13.531 | -.692 |
| .300 | .042 | .000 | .240 | -1.380 | -12.485 | -.620 |
| .350 | .054 | .000 | .279 | -1.266 | -11.516 | -.554 |
| .400 | .070 | .000 | .324 | -1.157 | -10.599 | -.489 |
| .450 | .089 | .000 | .375 | -1.052 | -9.712 | -.426 |
| .500 | .113 | .000 | .434 | -.949 | -8.840 | -.362 |
| .550 | .143 | .000 | .505 | -.845 | -7.971 | -.296 |
| .600 | .182 | .000 | .593 | -.740 | -7.090 | -.227 |
| .650 | .233 | .000 | .706 | -.632 | -6.183 | -.151 |
| .700 | .304 | .000 | .861 | -.517 | -5.234 | -.065 |
| .750 | .404 | .000 | 1.096 | -.394 | -4.222 | .040 |
| .800 | .554 | .001 | 1.526 | -.257 | -3.122 | .184 |
| .850 | .801 | .012 | 2.702 | -.096 | -1.920 | .432 |
| .900 | 1.274 | .176 | 12.282 | .105 | -.754 | 1.089 |
| .910 | 1.426 | .270 | 22.101 | .154 | -.568 | 1.344 |
| .920 | 1.610 | .391 | 45.969 | .207 | -.407 | 1.662 |
| .930 | 1.841 | .537 | 112.474 | .265 | -.270 | 2.051 |
| .940 | 2.138 | .708 | 330.624 | .330 | -.150 | 2.519 |
| .950 | 2.536 | .906 | 1209.208 | .404 | -.043 | 3.083 |
| .960 | 3.099 | 1.144 | 5872.327 | .491 | .059 | 3.769 |
| .970 | 3.965 | 1.450 | 43078.993 | .598 | .161 | 4.634 |
| .980 | 5.502 | 1.894 | 639247.790 | .740 | .277 | 5.806 |
| .990 | 9.220 | 2.723 | 4.751E7 | .965 | .435 | 7.677 |

a. Logarithm base = 10.

Ekstrak etanol biji buah srikaya replikasi II

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .003 | .000 | .024 | -2.587 | -6.348 | -1.618 |
| .020 | .004 | .000 | .032 | -2.387 | -5.851 | -1.489 |
| .030 | .005 | .000 | .039 | -2.260 | -5.535 | -1.407 |
| .040 | .007 | .000 | .045 | -2.164 | -5.298 | -1.345 |
| .050 | .008 | .000 | .051 | -2.087 | -5.106 | -1.295 |
| .060 | .010 | .000 | .056 | -2.021 | -4.942 | -1.252 |
| .070 | .011 | .000 | .061 | -1.963 | -4.798 | -1.214 |
| .080 | .012 | .000 | .066 | -1.911 | -4.670 | -1.180 |
| .090 | .014 | .000 | .071 | -1.864 | -4.553 | -1.149 |
| .100 | .015 | .000 | .076 | -1.820 | -4.446 | -1.121 |
| .150 | .023 | .000 | .100 | -1.640 | -4.002 | -1.002 |
| .200 | .032 | .000 | .124 | -1.497 | -3.650 | -.906 |
| .250 | .042 | .000 | .150 | -1.374 | -3.350 | -.823 |
| .300 | .054 | .001 | .179 | -1.264 | -3.081 | -.747 |
| .350 | .069 | .001 | .211 | -1.162 | -2.833 | -.676 |
| .400 | .086 | .003 | .247 | -1.065 | -2.599 | -.606 |
| .450 | .107 | .004 | .290 | -.971 | -2.374 | -.538 |
| .500 | .132 | .007 | .340 | -.879 | -2.154 | -.469 |
| .550 | .163 | .012 | .400 | -.787 | -1.937 | -.397 |
| .600 | .203 | .019 | .477 | -.693 | -1.720 | -.321 |
| .650 | .253 | .032 | .578 | -.596 | -1.500 | -.238 |
| .700 | .320 | .053 | .718 | -.494 | -1.275 | -.144 |
| .750 | .413 | .090 | .932 | -.384 | -1.044 | -.031 |
| .800 | .548 | .157 | 1.301 | -.261 | -.805 | .114 |
| .850 | .762 | .276 | 2.071 | -.118 | -.559 | .316 |
| .900 | 1.153 | .493 | 4.237 | .062 | -.307 | .627 |
| .910 | 1.274 | .556 | 5.139 | .105 | -.255 | .711 |
| .920 | 1.420 | .629 | 6.385 | .152 | -.202 | .805 |
| .930 | 1.601 | .714 | 8.169 | .204 | -.146 | .912 |
| .940 | 1.829 | .817 | 10.846 | .262 | -.088 | 1.035 |
| .950 | 2.130 | .943 | 15.121 | .328 | -.025 | 1.180 |
| .960 | 2.547 | 1.106 | 22.565 | .406 | .044 | 1.353 |
| .970 | 3.174 | 1.330 | 37.330 | .502 | .124 | 1.572 |
| .980 | 4.252 | 1.677 | 73.935 | .629 | .224 | 1.869 |
| .990 | 6.741 | 2.362 | 221.870 | .829 | .373 | 2.346 |

a. Logarithm base = 10.

Ekstrak etanol biji buah srikaya replikasi III

Confidence Limits

| | Probabil ity | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-----------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .002 | .000 | .022 | -2.721 | -7.027 | -1.654 |
| | .020 | .003 | .000 | .031 | -2.501 | -6.461 | -1.513 |
| | .030 | .004 | .000 | .038 | -2.361 | -6.103 | -1.424 |
| | .040 | .006 | .000 | .044 | -2.256 | -5.833 | -1.356 |
| | .050 | .007 | .000 | .050 | -2.171 | -5.614 | -1.301 |
| | .060 | .008 | .000 | .056 | -2.098 | -5.428 | -1.254 |
| | .070 | .009 | .000 | .061 | -2.034 | -5.265 | -1.212 |
| | .080 | .011 | .000 | .067 | -1.977 | -5.119 | -1.175 |
| | .090 | .012 | .000 | .072 | -1.925 | -4.986 | -1.141 |
| | .100 | .013 | .000 | .078 | -1.877 | -4.864 | -1.110 |
| | .150 | .021 | .000 | .105 | -1.680 | -4.360 | -.979 |
| | .200 | .030 | .000 | .134 | -1.522 | -3.960 | -.874 |
| | .250 | .041 | .000 | .165 | -1.387 | -3.619 | -.782 |
| | .300 | .054 | .000 | .200 | -1.266 | -3.313 | -.698 |
| | .350 | .070 | .001 | .240 | -1.154 | -3.032 | -.619 |
| | .400 | .090 | .002 | .287 | -1.047 | -2.767 | -.542 |
| | .450 | .114 | .003 | .342 | -.944 | -2.512 | -.466 |
| | .500 | .144 | .005 | .408 | -.843 | -2.264 | -.389 |
| | .550 | .182 | .010 | .492 | -.741 | -2.019 | -.308 |
| | .600 | .230 | .017 | .599 | -.638 | -1.774 | -.222 |
| | .650 | .294 | .030 | .746 | -.531 | -1.527 | -.127 |
| | .700 | .381 | .053 | .959 | -.419 | -1.275 | -.018 |
| | .750 | .504 | .096 | 1.300 | -.298 | -1.019 | .114 |
| | .800 | .687 | .175 | 1.929 | -.163 | -.757 | .285 |
| | .850 | .987 | .322 | 3.351 | -.006 | -.492 | .525 |
| | .900 | 1.557 | .598 | 7.791 | .192 | -.223 | .892 |
| | .910 | 1.739 | .680 | 9.760 | .240 | -.168 | .989 |
| | .920 | 1.959 | .775 | 12.561 | .292 | -.111 | 1.099 |
| | .930 | 2.235 | .889 | 16.711 | .349 | -.051 | 1.223 |
| | .940 | 2.588 | 1.026 | 23.185 | .413 | .011 | 1.365 |
| | .950 | 3.060 | 1.198 | 33.989 | .486 | .078 | 1.531 |
| | .960 | 3.726 | 1.423 | 53.815 | .571 | .153 | 1.731 |
| | .970 | 4.746 | 1.738 | 95.778 | .676 | .240 | 1.981 |
| | .980 | 6.546 | 2.234 | 209.129 | .816 | .349 | 2.320 |
| | .990 | 10.868 | 3.244 | 732.484 | 1.036 | .511 | 2.865 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi *n*-heksana biji buah srikaya replikasi I

Confidence Limits

| | Probabil ity | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-----------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .066 | .000 | .558 | -1.178 | -6.868 | -.254 |
| | .020 | .101 | .000 | .716 | -.996 | -6.201 | -.145 |
| | .030 | .132 | .000 | .840 | -.881 | -5.779 | -.076 |
| | .040 | .161 | .000 | .948 | -.794 | -5.462 | -.023 |
| | .050 | .189 | .000 | 1.045 | -.723 | -5.203 | .019 |
| | .060 | .217 | .000 | 1.137 | -.663 | -4.984 | .056 |
| | .070 | .245 | .000 | 1.224 | -.610 | -4.791 | .088 |
| | .080 | .274 | .000 | 1.308 | -.563 | -4.619 | .117 |
| | .090 | .302 | .000 | 1.390 | -.520 | -4.463 | .143 |
| | .100 | .331 | .000 | 1.469 | -.480 | -4.318 | .167 |
| | .150 | .483 | .000 | 1.855 | -.316 | -3.723 | .268 |
| | .200 | .651 | .001 | 2.239 | -.186 | -3.251 | .350 |
| | .250 | .842 | .001 | 2.640 | -.075 | -2.847 | .422 |
| | .300 | 1.061 | .003 | 3.069 | .026 | -2.486 | .487 |
| | .350 | 1.314 | .007 | 3.541 | .119 | -2.153 | .549 |
| | .400 | 1.610 | .015 | 4.072 | .207 | -1.838 | .610 |
| | .450 | 1.960 | .029 | 4.685 | .292 | -1.536 | .671 |
| | .500 | 2.378 | .057 | 5.414 | .376 | -1.242 | .734 |
| | .550 | 2.885 | .112 | 6.315 | .460 | -.952 | .800 |
| | .600 | 3.511 | .217 | 7.485 | .545 | -.663 | .874 |
| | .650 | 4.302 | .424 | 9.117 | .634 | -.373 | .960 |
| | .700 | 5.328 | .825 | 11.636 | .727 | -.084 | 1.066 |
| | .750 | 6.712 | 1.586 | 16.155 | .827 | .200 | 1.208 |
| | .800 | 8.681 | 2.930 | 26.116 | .939 | .467 | 1.417 |
| | .850 | 11.715 | 5.023 | 54.519 | 1.069 | .701 | 1.737 |
| | .900 | 17.082 | 8.056 | 169.099 | 1.233 | .906 | 2.228 |
| | .910 | 18.711 | 8.837 | 227.118 | 1.272 | .946 | 2.356 |
| | .920 | 20.657 | 9.710 | 314.889 | 1.315 | .987 | 2.498 |
| | .930 | 23.031 | 10.703 | 453.795 | 1.362 | 1.030 | 2.657 |
| | .940 | 26.008 | 11.861 | 686.667 | 1.415 | 1.074 | 2.837 |
| | .950 | 29.874 | 13.254 | 1108.106 | 1.475 | 1.122 | 3.045 |
| | .960 | 35.157 | 15.004 | 1956.866 | 1.546 | 1.176 | 3.292 |
| | .970 | 42.949 | 17.350 | 3965.414 | 1.633 | 1.239 | 3.598 |
| | .980 | 56.044 | 20.865 | 10228.419 | 1.749 | 1.319 | 4.010 |
| | .990 | 85.248 | 27.538 | 46149.032 | 1.931 | 1.440 | 4.664 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi *n*-heksana biji buah srikaya replikasi II

Confidence Limits

| | Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .043 | | | -1.362 | | |
| | .020 | .068 | | | -1.166 | | |
| | .030 | .091 | | | -1.042 | | |
| | .040 | .113 | | | -.949 | | |
| | .050 | .134 | | | -.872 | | |
| | .060 | .156 | | | -.808 | | |
| | .070 | .177 | | | -.751 | | |
| | .080 | .199 | | | -.700 | | |
| | .090 | .222 | | | -.654 | | |
| | .100 | .245 | | | -.611 | | |
| | .150 | .367 | | | -.435 | | |
| | .200 | .507 | | | -.295 | | |
| | .250 | .668 | | | -.175 | | |
| | .300 | .856 | | | -.067 | | |
| | .350 | 1.078 | | | .033 | | |
| | .400 | 1.341 | | | .128 | | |
| | .450 | 1.657 | | | .219 | | |
| | .500 | 2.040 | | | .310 | | |
| | .550 | 2.511 | | | .400 | | |
| | .600 | 3.102 | | | .492 | | |
| | .650 | 3.859 | | | .586 | | |
| | .700 | 4.858 | | | .686 | | |
| | .750 | 6.227 | | | .794 | | |
| | .800 | 8.211 | | | .914 | | |
| | .850 | 11.334 | | | 1.054 | | |
| | .900 | 17.004 | | | 1.231 | | |
| | .910 | 18.754 | | | 1.273 | | |
| | .920 | 20.860 | | | 1.319 | | |
| | .930 | 23.449 | | | 1.370 | | |
| | .940 | 26.723 | | | 1.427 | | |
| | .950 | 31.019 | | | 1.492 | | |
| | .960 | 36.955 | | | 1.568 | | |
| | .970 | 45.833 | | | 1.661 | | |
| | .980 | 61.019 | | | 1.785 | | |
| | .990 | 95.800 | | | 1.981 | | |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi *n*-heksana biji buah srikaya replikasi III

Confidence Limits

| | Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .071 | .000 | .568 | -1.148 | -6.643 | -.246 |
| | .020 | .107 | .000 | .723 | -.972 | -6.003 | -.141 |
| | .030 | .138 | .000 | .844 | -.860 | -5.598 | -.074 |
| | .040 | .168 | .000 | .949 | -.776 | -5.293 | -.023 |
| | .050 | .196 | .000 | 1.044 | -.707 | -5.045 | .019 |
| | .060 | .225 | .000 | 1.132 | -.649 | -4.834 | .054 |
| | .070 | .253 | .000 | 1.216 | -.598 | -4.650 | .085 |
| | .080 | .281 | .000 | 1.297 | -.552 | -4.484 | .113 |
| | .090 | .309 | .000 | 1.375 | -.510 | -4.334 | .138 |
| | .100 | .337 | .000 | 1.451 | -.472 | -4.196 | .162 |
| | .150 | .486 | .000 | 1.819 | -.313 | -3.624 | .260 |
| | .200 | .650 | .001 | 2.182 | -.187 | -3.171 | .339 |
| | .250 | .835 | .002 | 2.558 | -.079 | -2.783 | .408 |
| | .300 | 1.044 | .004 | 2.958 | .019 | -2.436 | .471 |
| | .350 | 1.285 | .008 | 3.395 | .109 | -2.116 | .531 |
| | .400 | 1.564 | .015 | 3.883 | .194 | -1.814 | .589 |
| | .450 | 1.892 | .030 | 4.441 | .277 | -1.523 | .648 |
| | .500 | 2.282 | .058 | 5.100 | .358 | -1.240 | .708 |
| | .550 | 2.753 | .110 | 5.903 | .440 | -.960 | .771 |
| | .600 | 3.330 | .209 | 6.930 | .522 | -.681 | .841 |
| | .650 | 4.055 | .398 | 8.332 | .608 | -.400 | .921 |
| | .700 | 4.989 | .762 | 10.440 | .698 | -.118 | 1.019 |
| | .750 | 6.241 | 1.451 | 14.090 | .795 | .162 | 1.149 |
| | .800 | 8.008 | 2.682 | 21.816 | .904 | .428 | 1.339 |
| | .850 | 10.708 | 4.637 | 42.988 | 1.030 | .666 | 1.633 |
| | .900 | 15.433 | 7.477 | 124.622 | 1.188 | .874 | 2.096 |
| | .910 | 16.858 | 8.202 | 164.874 | 1.227 | .914 | 2.217 |
| | .920 | 18.555 | 9.010 | 224.963 | 1.268 | .955 | 2.352 |
| | .930 | 20.620 | 9.925 | 318.666 | 1.314 | .997 | 2.503 |
| | .940 | 23.197 | 10.986 | 473.175 | 1.365 | 1.041 | 2.675 |
| | .950 | 26.533 | 12.256 | 747.557 | 1.424 | 1.088 | 2.874 |
| | .960 | 31.070 | 13.843 | 1288.051 | 1.492 | 1.141 | 3.110 |
| | .970 | 37.724 | 15.960 | 2533.046 | 1.577 | 1.203 | 3.404 |
| | .980 | 48.825 | 19.110 | 6280.355 | 1.689 | 1.281 | 3.798 |
| | .990 | 73.318 | 25.043 | 26631.905 | 1.865 | 1.399 | 4.425 |

Confidence Limits

| | Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .071 | .000 | .568 | -1.148 | -6.643 | -.246 |
| | .020 | .107 | .000 | .723 | -.972 | -6.003 | -.141 |
| | .030 | .138 | .000 | .844 | -.860 | -5.598 | -.074 |
| | .040 | .168 | .000 | .949 | -.776 | -5.293 | -.023 |
| | .050 | .196 | .000 | 1.044 | -.707 | -5.045 | .019 |
| | .060 | .225 | .000 | 1.132 | -.649 | -4.834 | .054 |
| | .070 | .253 | .000 | 1.216 | -.598 | -4.650 | .085 |
| | .080 | .281 | .000 | 1.297 | -.552 | -4.484 | .113 |
| | .090 | .309 | .000 | 1.375 | -.510 | -4.334 | .138 |
| | .100 | .337 | .000 | 1.451 | -.472 | -4.196 | .162 |
| | .150 | .486 | .000 | 1.819 | -.313 | -3.624 | .260 |
| | .200 | .650 | .001 | 2.182 | -.187 | -3.171 | .339 |
| | .250 | .835 | .002 | 2.558 | -.079 | -2.783 | .408 |
| | .300 | 1.044 | .004 | 2.958 | .019 | -2.436 | .471 |
| | .350 | 1.285 | .008 | 3.395 | .109 | -2.116 | .531 |
| | .400 | 1.564 | .015 | 3.883 | .194 | -1.814 | .589 |
| | .450 | 1.892 | .030 | 4.441 | .277 | -1.523 | .648 |
| | .500 | 2.282 | .058 | 5.100 | .358 | -1.240 | .708 |
| | .550 | 2.753 | .110 | 5.903 | .440 | -.960 | .771 |
| | .600 | 3.330 | .209 | 6.930 | .522 | -.681 | .841 |
| | .650 | 4.055 | .398 | 8.332 | .608 | -.400 | .921 |
| | .700 | 4.989 | .762 | 10.440 | .698 | -.118 | 1.019 |
| | .750 | 6.241 | 1.451 | 14.090 | .795 | .162 | 1.149 |
| | .800 | 8.008 | 2.682 | 21.816 | .904 | .428 | 1.339 |
| | .850 | 10.708 | 4.637 | 42.988 | 1.030 | .666 | 1.633 |
| | .900 | 15.433 | 7.477 | 124.622 | 1.188 | .874 | 2.096 |
| | .910 | 16.858 | 8.202 | 164.874 | 1.227 | .914 | 2.217 |
| | .920 | 18.555 | 9.010 | 224.963 | 1.268 | .955 | 2.352 |
| | .930 | 20.620 | 9.925 | 318.666 | 1.314 | .997 | 2.503 |
| | .940 | 23.197 | 10.986 | 473.175 | 1.365 | 1.041 | 2.675 |
| | .950 | 26.533 | 12.256 | 747.557 | 1.424 | 1.088 | 2.874 |
| | .960 | 31.070 | 13.843 | 1288.051 | 1.492 | 1.141 | 3.110 |
| | .970 | 37.724 | 15.960 | 2533.046 | 1.577 | 1.203 | 3.404 |
| | .980 | 48.825 | 19.110 | 6280.355 | 1.689 | 1.281 | 3.798 |
| | .990 | 73.318 | 25.043 | 26631.905 | 1.865 | 1.399 | 4.425 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi etil asetat biji buah srikaya replikasi I

Confidence Limits

| | Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .047 | .000 | .403 | -1.329 | -6.790 | -.394 |
| | .020 | .070 | .000 | .511 | -1.157 | -6.190 | -.291 |
| | .030 | .089 | .000 | .595 | -1.048 | -5.809 | -.226 |
| | .040 | .108 | .000 | .666 | -.967 | -5.524 | -.176 |
| | .050 | .126 | .000 | .731 | -.900 | -5.291 | -.136 |
| | .060 | .144 | .000 | .792 | -.843 | -5.093 | -.102 |
| | .070 | .161 | .000 | .849 | -.793 | -4.920 | -.071 |
| | .080 | .178 | .000 | .904 | -.749 | -4.765 | -.044 |
| | .090 | .196 | .000 | .957 | -.708 | -4.624 | -.019 |
| | .100 | .213 | .000 | 1.008 | -.671 | -4.494 | .004 |
| | .150 | .304 | .000 | 1.256 | -.517 | -3.957 | .099 |
| | .200 | .404 | .000 | 1.498 | -.394 | -3.532 | .176 |
| | .250 | .514 | .001 | 1.747 | -.289 | -3.168 | .242 |
| | .300 | .639 | .001 | 2.009 | -.194 | -2.841 | .303 |
| | .350 | .782 | .003 | 2.292 | -.107 | -2.540 | .360 |
| | .400 | .947 | .006 | 2.603 | -.024 | -2.255 | .415 |
| | .450 | 1.140 | .010 | 2.953 | .057 | -1.981 | .470 |
| | .500 | 1.368 | .019 | 3.356 | .136 | -1.712 | .526 |
| | .550 | 1.641 | .036 | 3.831 | .215 | -1.446 | .583 |
| | .600 | 1.975 | .066 | 4.412 | .296 | -1.178 | .645 |
| | .650 | 2.392 | .124 | 5.154 | .379 | -.905 | .712 |
| | .700 | 2.926 | .238 | 6.164 | .466 | -.624 | .790 |
| | .750 | 3.637 | .465 | 7.676 | .561 | -.333 | .885 |
| | .800 | 4.635 | .934 | 10.306 | .666 | -.030 | 1.013 |
| | .850 | 6.148 | 1.895 | 16.151 | .789 | .278 | 1.208 |
| | .900 | 8.772 | 3.718 | 35.263 | .943 | .570 | 1.547 |
| | .910 | 9.558 | 4.226 | 44.089 | .980 | .626 | 1.644 |
| | .920 | 10.492 | 4.797 | 56.902 | 1.021 | .681 | 1.755 |
| | .930 | 11.626 | 5.444 | 76.295 | 1.065 | .736 | 1.882 |
| | .940 | 13.036 | 6.190 | 107.247 | 1.115 | .792 | 2.030 |
| | .950 | 14.855 | 7.071 | 160.251 | 1.172 | .850 | 2.205 |
| | .960 | 17.319 | 8.156 | 260.425 | 1.239 | .911 | 2.416 |
| | .970 | 20.916 | 9.577 | 480.140 | 1.320 | .981 | 2.681 |
| | .980 | 26.878 | 11.652 | 1101.755 | 1.429 | 1.066 | 3.042 |
| | .990 | 39.909 | 15.483 | 4182.415 | 1.601 | 1.190 | 3.621 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi etil asetat biji buah srikaya replikasi II

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .075 | .000 | .568 | -1.124 | -9.417 | -.245 |
| .020 | .108 | .000 | .696 | -.968 | -8.585 | -.157 |
| .030 | .135 | .000 | .793 | -.868 | -8.057 | -.101 |
| .040 | .161 | .000 | .874 | -.794 | -7.660 | -.058 |
| .050 | .185 | .000 | .947 | -.733 | -7.338 | -.024 |
| .060 | .208 | .000 | 1.013 | -.681 | -7.063 | .006 |
| .070 | .231 | .000 | 1.076 | -.636 | -6.822 | .032 |
| .080 | .254 | .000 | 1.135 | -.595 | -6.607 | .055 |
| .090 | .276 | .000 | 1.192 | -.558 | -6.411 | .076 |
| .100 | .299 | .000 | 1.247 | -.524 | -6.230 | .096 |
| .150 | .413 | .000 | 1.504 | -.384 | -5.484 | .177 |
| .200 | .535 | .000 | 1.749 | -.272 | -4.892 | .243 |
| .250 | .667 | .000 | 1.994 | -.176 | -4.384 | .300 |
| .300 | .813 | .000 | 2.247 | -.090 | -3.929 | .352 |
| .350 | .977 | .000 | 2.515 | -.010 | -3.509 | .401 |
| .400 | 1.163 | .001 | 2.805 | .066 | -3.110 | .448 |
| .450 | 1.377 | .002 | 3.125 | .139 | -2.726 | .495 |
| .500 | 1.626 | .004 | 3.488 | .211 | -2.349 | .543 |
| .550 | 1.920 | .011 | 3.911 | .283 | -1.975 | .592 |
| .600 | 2.272 | .025 | 4.426 | .356 | -1.597 | .646 |
| .650 | 2.705 | .061 | 5.086 | .432 | -1.212 | .706 |
| .700 | 3.251 | .153 | 6.007 | .512 | -.815 | .779 |
| .750 | 3.964 | .395 | 7.491 | .598 | -.404 | .875 |
| .800 | 4.944 | 1.027 | 10.566 | .694 | .011 | 1.024 |
| .850 | 6.396 | 2.436 | 20.261 | .806 | .387 | 1.307 |
| .900 | 8.843 | 4.590 | 72.310 | .947 | .662 | 1.859 |
| .910 | 9.562 | 5.087 | 103.403 | .981 | .706 | 2.015 |
| .920 | 10.411 | 5.614 | 154.477 | 1.017 | .749 | 2.189 |
| .930 | 11.430 | 6.186 | 242.986 | 1.058 | .791 | 2.386 |
| .940 | 12.688 | 6.821 | 407.257 | 1.103 | .834 | 2.610 |
| .950 | 14.292 | 7.551 | 741.199 | 1.155 | .878 | 2.870 |
| .960 | 16.437 | 8.428 | 1512.113 | 1.216 | .926 | 3.180 |
| .970 | 19.521 | 9.555 | 3668.042 | 1.291 | .980 | 3.564 |
| .980 | 24.534 | 11.170 | 12042.244 | 1.390 | 1.048 | 4.081 |
| .990 | 35.174 | 14.073 | 79604.057 | 1.546 | 1.148 | 4.901 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi etil asetat biji buah srikaya replikasi III

Confidence Limits

| Probabil ity | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-----------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .091 | .000 | .763 | -1.041 | -78.701 | -.118 |
| .020 | .129 | .000 | .914 | -.889 | -72.092 | -.039 |
| .030 | .161 | .000 | 1.026 | -.793 | -67.900 | .011 |
| .040 | .191 | .000 | 1.120 | -.720 | -64.746 | .049 |
| .050 | .218 | .000 | 1.202 | -.661 | -62.180 | .080 |
| .060 | .245 | .000 | 1.277 | -.611 | -59.997 | .106 |
| .070 | .271 | .000 | 1.347 | -.567 | -58.082 | .129 |
| .080 | .297 | .000 | 1.413 | -.527 | -56.368 | .150 |
| .090 | .323 | .000 | 1.476 | -.491 | -54.809 | .169 |
| .100 | .348 | .000 | 1.536 | -.458 | -53.374 | .187 |
| .150 | .477 | .000 | 1.817 | -.322 | -47.434 | .259 |
| .200 | .612 | .000 | 2.079 | -.213 | -42.713 | .318 |
| .250 | .759 | .000 | 2.338 | -.120 | -38.664 | .369 |
| .300 | .921 | .000 | 2.602 | -.036 | -35.029 | .415 |
| .350 | 1.101 | .000 | 2.878 | .042 | -31.661 | .459 |
| .400 | 1.304 | .000 | 3.175 | .115 | -28.466 | .502 |
| .450 | 1.536 | .000 | 3.501 | .187 | -25.376 | .544 |
| .500 | 1.806 | .000 | 3.870 | .257 | -22.337 | .588 |
| .550 | 2.122 | .000 | 4.301 | .327 | -19.300 | .634 |
| .600 | 2.500 | .000 | 4.830 | .398 | -16.218 | .684 |
| .650 | 2.962 | .000 | 5.530 | .472 | -13.039 | .743 |
| .700 | 3.542 | .000 | 6.586 | .549 | -9.703 | .819 |
| .750 | 4.295 | .000 | 8.690 | .633 | -6.142 | .939 |
| .800 | 5.323 | .004 | 18.246 | .726 | -2.364 | 1.261 |
| .850 | 6.837 | 1.647 | 2884.827 | .835 | .217 | 3.460 |
| .900 | 9.368 | 4.858 | 1.008E9 | .972 | .686 | 9.003 |
| .910 | 10.108 | 5.390 | 2.575E10 | 1.005 | .732 | 10.411 |
| .920 | 10.978 | 5.922 | 8.863E11 | 1.041 | .772 | 11.948 |
| .930 | 12.023 | 6.476 | 4.402E13 | 1.080 | .811 | 13.644 |
| .940 | 13.306 | 7.072 | 3.492E15 | 1.124 | .850 | 15.543 |
| .950 | 14.939 | 7.741 | 5.171E17 | 1.174 | .889 | 17.714 |
| .960 | 17.114 | 8.531 | 1.852E20 | 1.233 | .931 | 20.268 |
| .970 | 20.228 | 9.530 | 2.578E23 | 1.306 | .979 | 23.411 |
| .980 | 25.261 | 10.937 | 3.931E27 | 1.402 | 1.039 | 27.594 |
| .990 | 35.854 | 13.414 | 1.560E34 | 1.555 | 1.128 | 34.193 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi air biji buah srikaya replikasi I

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .371 | .000 | 2.515 | -.430 | -6.572 | .401 |
| .020 | .527 | .000 | 3.081 | -.278 | -5.922 | .489 |
| .030 | .658 | .000 | 3.506 | -.182 | -5.510 | .545 |
| .040 | .778 | .000 | 3.865 | -.109 | -5.200 | .587 |
| .050 | .891 | .000 | 4.184 | -.050 | -4.948 | .622 |
| .060 | 1.000 | .000 | 4.478 | .000 | -4.733 | .651 |
| .070 | 1.107 | .000 | 4.753 | .044 | -4.545 | .677 |
| .080 | 1.213 | .000 | 5.014 | .084 | -4.377 | .700 |
| .090 | 1.317 | .000 | 5.264 | .120 | -4.224 | .721 |
| .100 | 1.421 | .000 | 5.506 | .153 | -4.083 | .741 |
| .150 | 1.947 | .000 | 6.640 | .289 | -3.501 | .822 |
| .200 | 2.501 | .001 | 7.718 | .398 | -3.039 | .888 |
| .250 | 3.100 | .002 | 8.796 | .491 | -2.643 | .944 |
| .300 | 3.759 | .005 | 9.907 | .575 | -2.288 | .996 |
| .350 | 4.495 | .011 | 11.082 | .653 | -1.961 | 1.045 |
| .400 | 5.325 | .022 | 12.351 | .726 | -1.650 | 1.092 |
| .450 | 6.274 | .045 | 13.752 | .798 | -1.351 | 1.138 |
| .500 | 7.374 | .087 | 15.337 | .868 | -1.058 | 1.186 |
| .550 | 8.666 | .171 | 17.180 | .938 | -.767 | 1.235 |
| .600 | 10.210 | .335 | 19.406 | 1.009 | -.475 | 1.288 |
| .650 | 12.097 | .666 | 22.233 | 1.083 | -.176 | 1.347 |
| .700 | 14.464 | 1.350 | 26.110 | 1.160 | .130 | 1.417 |
| .750 | 17.539 | 2.798 | 32.118 | 1.244 | .447 | 1.507 |
| .800 | 21.740 | 5.850 | 43.550 | 1.337 | .767 | 1.639 |
| .850 | 27.923 | 11.659 | 73.618 | 1.446 | 1.067 | 1.867 |
| .900 | 38.258 | 20.421 | 193.756 | 1.583 | 1.310 | 2.287 |
| .910 | 41.281 | 22.512 | 254.233 | 1.616 | 1.352 | 2.405 |
| .920 | 44.837 | 24.758 | 345.194 | 1.652 | 1.394 | 2.538 |
| .930 | 49.101 | 27.213 | 488.073 | 1.691 | 1.435 | 2.688 |
| .940 | 54.345 | 29.959 | 725.424 | 1.735 | 1.477 | 2.861 |
| .950 | 61.013 | 33.130 | 1150.295 | 1.785 | 1.520 | 3.061 |
| .960 | 69.899 | 36.955 | 1994.843 | 1.844 | 1.568 | 3.300 |
| .970 | 82.616 | 41.879 | 3961.529 | 1.917 | 1.622 | 3.598 |
| .980 | 103.172 | 48.939 | 9965.767 | 2.014 | 1.690 | 3.999 |
| .990 | 146.438 | 61.636 | 43293.947 | 2.166 | 1.790 | 4.636 |

a. Logarithm base = 10.

Fraksi air biji buah srikaya replikasi II

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b | | |
|--------------------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT ^a .010 | .609 | .000 | 3.438 | -.215 | -11.032 | .536 |
| .020 | .830 | .000 | 4.111 | -.081 | -9.923 | .614 |
| .030 | 1.009 | .000 | 4.612 | .004 | -9.221 | .664 |
| .040 | 1.169 | .000 | 5.034 | .068 | -8.693 | .702 |
| .050 | 1.317 | .000 | 5.409 | .120 | -8.263 | .733 |
| .060 | 1.459 | .000 | 5.754 | .164 | -7.898 | .760 |
| .070 | 1.595 | .000 | 6.077 | .203 | -7.578 | .784 |
| .080 | 1.728 | .000 | 6.385 | .238 | -7.292 | .805 |
| .090 | 1.858 | .000 | 6.682 | .269 | -7.032 | .825 |
| .100 | 1.987 | .000 | 6.969 | .298 | -6.793 | .843 |
| .150 | 2.622 | .000 | 8.336 | .419 | -5.804 | .921 |
| .200 | 3.269 | .000 | 9.678 | .514 | -5.021 | .986 |
| .250 | 3.949 | .000 | 11.077 | .596 | -4.353 | 1.044 |
| .300 | 4.680 | .000 | 12.599 | .670 | -3.756 | 1.100 |
| .350 | 5.477 | .001 | 14.321 | .739 | -3.206 | 1.156 |
| .400 | 6.359 | .002 | 16.347 | .803 | -2.689 | 1.213 |
| .450 | 7.347 | .006 | 18.843 | .866 | -2.196 | 1.275 |
| .500 | 8.470 | .019 | 22.092 | .928 | -1.718 | 1.344 |
| .550 | 9.764 | .056 | 26.632 | .990 | -1.252 | 1.425 |
| .600 | 11.281 | .159 | 33.609 | 1.052 | -.798 | 1.526 |
| .650 | 13.097 | .438 | 45.816 | 1.117 | -.358 | 1.661 |
| .700 | 15.329 | 1.135 | 71.290 | 1.186 | .055 | 1.853 |
| .750 | 18.166 | 2.633 | 138.193 | 1.259 | .420 | 2.140 |
| .800 | 21.947 | 5.225 | 371.527 | 1.341 | .718 | 2.570 |
| .850 | 27.358 | 8.881 | 1538.818 | 1.437 | .948 | 3.187 |
| .900 | 36.100 | 13.684 | 11638.485 | 1.558 | 1.136 | 4.066 |
| .910 | 38.601 | 14.853 | 19402.562 | 1.587 | 1.172 | 4.288 |
| .920 | 41.514 | 16.132 | 34027.542 | 1.618 | 1.208 | 4.532 |
| .930 | 44.972 | 17.551 | 63518.437 | 1.653 | 1.244 | 4.803 |
| .940 | 49.176 | 19.159 | 128373.219 | 1.692 | 1.282 | 5.108 |
| .950 | 54.451 | 21.031 | 288346.985 | 1.736 | 1.323 | 5.460 |
| .960 | 61.377 | 23.295 | 751559.485 | 1.788 | 1.367 | 5.876 |
| .970 | 71.109 | 26.199 | 2460536.772 | 1.852 | 1.418 | 6.391 |
| .980 | 86.477 | 30.308 | 1.203E7 | 1.937 | 1.482 | 7.080 |
| .990 | 117.715 | 37.508 | 1.492E8 | 2.071 | 1.574 | 8.174 |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Fraksi air biji buah srikaya replikasi III

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a | | |
|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | .619 | .009 | 2.191 | -.208 | -2.054 | .341 |
| .020 | .832 | .017 | 2.661 | -.080 | -1.770 | .425 |
| .030 | 1.002 | .026 | 3.012 | .001 | -1.591 | .479 |
| .040 | 1.154 | .035 | 3.306 | .062 | -1.456 | .519 |
| .050 | 1.293 | .045 | 3.568 | .112 | -1.346 | .552 |
| .060 | 1.426 | .056 | 3.808 | .154 | -1.253 | .581 |
| .070 | 1.552 | .067 | 4.032 | .191 | -1.171 | .606 |
| .080 | 1.676 | .080 | 4.244 | .224 | -1.098 | .628 |
| .090 | 1.796 | .093 | 4.447 | .254 | -1.032 | .648 |
| .100 | 1.915 | .107 | 4.644 | .282 | -.971 | .667 |
| .150 | 2.495 | .191 | 5.559 | .397 | -.718 | .745 |
| .200 | 3.080 | .303 | 6.425 | .489 | -.518 | .808 |
| .250 | 3.689 | .449 | 7.287 | .567 | -.347 | .863 |
| .300 | 4.338 | .639 | 8.173 | .637 | -.195 | .912 |
| .350 | 5.042 | .883 | 9.109 | .703 | -.054 | .959 |
| .400 | 5.814 | 1.197 | 10.118 | .764 | .078 | 1.005 |
| .450 | 6.674 | 1.604 | 11.232 | .824 | .205 | 1.050 |
| .500 | 7.644 | 2.130 | 12.492 | .883 | .328 | 1.097 |
| .550 | 8.755 | 2.817 | 13.957 | .942 | .450 | 1.145 |
| .600 | 10.050 | 3.718 | 15.723 | 1.002 | .570 | 1.197 |
| .650 | 11.590 | 4.907 | 17.950 | 1.064 | .691 | 1.254 |
| .700 | 13.469 | 6.482 | 20.932 | 1.129 | .812 | 1.321 |
| .750 | 15.839 | 8.563 | 25.254 | 1.200 | .933 | 1.402 |
| .800 | 18.973 | 11.291 | 32.189 | 1.278 | 1.053 | 1.508 |
| .850 | 23.416 | 14.850 | 44.826 | 1.370 | 1.172 | 1.652 |
| .900 | 30.515 | 19.700 | 72.351 | 1.485 | 1.294 | 1.859 |
| .910 | 32.530 | 20.931 | 81.842 | 1.512 | 1.321 | 1.913 |
| .920 | 34.870 | 22.300 | 93.806 | 1.542 | 1.348 | 1.972 |
| .930 | 37.638 | 23.847 | 109.270 | 1.576 | 1.377 | 2.039 |
| .940 | 40.990 | 25.633 | 129.924 | 1.613 | 1.409 | 2.114 |
| .950 | 45.179 | 27.754 | 158.737 | 1.655 | 1.443 | 2.201 |
| .960 | 50.650 | 30.376 | 201.484 | 1.705 | 1.483 | 2.304 |
| .970 | 58.293 | 33.820 | 271.096 | 1.766 | 1.529 | 2.433 |
| .980 | 70.267 | 38.830 | 404.060 | 1.847 | 1.589 | 2.606 |
| .990 | 94.325 | 47.925 | 763.457 | 1.975 | 1.681 | 2.883 |

a. Logarithm base = 10.

Lampiran 11. Hasil analisa data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | lc50 |
|----------------------------------|----------------|----------|
| N | | 12 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 2.94808 |
| | Std. Deviation | 3.061566 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .324 |
| | Positive | .324 |
| | Negative | -.177 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | 1.122 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .161 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

lc50

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 5.268 | 3 | 8 | .027 |

Uji Kruskal Wallis

Test Statistics^{a,b}

| | | lc50 |
|-------------|--|--------|
| Chi-Square | | 10.385 |
| df | | 3 |
| Asymp. Sig. | | .016 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

Keterangan :

Nilai signifikansi $0,016 > 0,05$, H_0 ditolak yang artinya bahwa ada perbedaan antara sampel yang diuji

Uji Mann Whitney

Ekstrak etanol dengan *n*-heksana**Ranks**

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------|---|-----------|--------------|
| lc50 ekstrak | 3 | 2.00 | 6.00 |
| fraksi n-heksana | 3 | 5.00 | 15.00 |
| Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|---|-----------|--------------|
| lc50 ekstrak | 3 | 2.00 | 6.00 |
| fraksi etil asetat | 3 | 5.00 | 15.00 |
| Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ekstrak etanol dengan fraksi air

Ranks

| Sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------|---|-----------|--------------|
| lc50 Ekstrak | 3 | 2.00 | 6.00 |
| fraksi air | 3 | 5.00 | 15.00 |
| Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Fraksi *n*-heksana dengan fraksi etil asetat

Ranks

| Sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------|---|-----------|--------------|
| lc50 fraksi n-heksana | 3 | 5.00 | 15.00 |
| fraksi etil asetat | 3 | 2.00 | 6.00 |
| Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Fraksi *n*-heksana dengan fraksi air

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------|---|-----------|--------------|
| lc50 fraksi n-heksana | 3 | 2.00 | 6.00 |
| fraksi air | 3 | 5.00 | 15.00 |
| Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Fraksi etil asetat dengan fraksi air

Ranks

| sampel | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------|--------------------|---|-----------|--------------|
| lc50 | fraksi etil asetat | 3 | 2.00 | 6.00 |
| | fraksi air | 3 | 5.00 | 15.00 |
| | Total | 6 | | |

Test Statistics^b

| | lc50 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 6.000 |
| Z | -1.964 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .050 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel