

Aktivitas Biolarvasidal Ekstrak Metanol Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Larva Lalat *Chrysomya bezziana*

Wardhana AH¹, Diana N²

¹Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata 30, Bogor 16114

E-mail: wardhana24id@yahoo.com

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta

(Diterima 24 Desember 2013 ; disetujui 10 Februari 2014)

ABSTRACT

Wardhana AH, Diana N. 2014. Biolarvacidal activity of methanol extract of Kipahit leaves (*Tithonia diversifolia*) against larvae of *Chrysomya bezziana* fly. JITV 19(1): 43-51. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.993>

Myiasis or “belatungan” is the infestation of live human and vertebrate animal tissue with dipterous larvae, *Chrysomya bezziana*. In general, synthetic insecticides were applied to control the disease. However, it causes negative impact on animal product, so that it is required to find an alternative treatment using herbal medicine. The aim of this study was to access activity of methanol extract of Kipahit leaves (*Tithonia diversifolia*) against various stages of *C. bezziana* larvae (L1, L2 and L3). Five treatments were applied with five replications, i.e. control/water (P0), 0,5%, 1%, 2% of the extract for PI, PII and PIII, respectively. Another treatment was 0,05% Asuntol for positive control (PIV). Each treatment was added with 1% DMSO and twenty larvae were examined for each replication. Bioassay of L1 and L2 was addressed to investigate effect of intestinal toxicity by mixing the extract with Meat-Blood Mixture (MBM) and Larval Rearing Media (LRM) for L1 and L2, respectively. Bioassay of L3 was to investigate effect of contact toxicity through soaking the larvae into the extract solution for 10 seconds followed by incubating in vermiculite at 36°C. All living larvae after being treated by various concentration of the extract were reared to pupae and allowed to emerge as imago. Number of living larvae and pupae, pupae weight and number of imago were observed. All data were analysed using ANOVA followed by Dunnett test at 95% confidential limit. For L2, larval mortality were counted and probit analysed using POLO-PC software, therefore the lethal concentration (LC₅₀ and LC₉₅) and lethal time (LT₅₀ and LT₉₅) were defined. Results demonstrated that 1% of the extract was the most effective concentration which was able to kill the larvae and decrease the pupae weight. It also caused to fail pupation and imago emergence. The further study might be pursued to investigate *in vivo* assay of the extract in infested livestock.

Key Words: *Tithonia diversifolia*, Myiasis, *Chrysomya bezziana*, Biolarvasidal

ABSTRAK

Wardhana AH, Diana N. 2014. Aktivitas biolarvasidal ekstrak metanol daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) terhadap larva lalat *Chrysomya bezziana*. JITV 19(1): 43-51. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.993>

Penyakit myiasis atau belatungan merupakan infestasi larva lalat *Chrysomya bezziana* ke dalam jaringan yang hidup baik pada manusia maupun hewan. Umumnya upaya pengendalian myiasis di lapang menggunakan insektisida sintetik. Namun penggunaan insektisida ini menimbulkan residu pada produk hewan sehingga perlu dicari obat alternatif yang berbasis pada tanaman obat. Tujuan penelitian ini untuk menguji efektifitas ekstrak metanol daun Kipahit pada larva *C. bezziana* dalam berbagai stadium, yaitu L1, L2 dan L3. Uji ini dibagi menjadi lima perlakuan dengan lima ulangan, yaitu akuades/kontrol negatif (P0), ekstrak metanol daun Kipahit dengan konsentrasi 0,5% b/v (PI), 1% b/v (PII), dan 2% b/v (PIII), serta kontrol positif/Asuntol 0,05% (PIV). Tiap-tiap perlakuan dicampur dengan pengemulsi DMSO 1% dan digunakan 20 larva per ulangan. Perlakuan L1 dan L2 ditujukan untuk menguji efektifitas racun cerna dengan cara mencampur bahan ekstrak pada media *Meat-Blood Mixture* / MBM (L1) dan *Larval Rearing Media* / LRM (L2), sedangkan pada L3 ditujukan menguji efek racun kontak dengan cara merendamnya ke dalam larutan ekstrak selama 10 detik, selanjutnya diinkubasi dalam *vermiculite* pada suhu 36°C selama enam hari. Semua larva yang hidup pada masing-masing uji, dipelihara hingga menjadi pupa. Peubah yang diamati adalah jumlah larva yang hidup dan berkembang menjadi pupa, bobot pupa, dan daya tetas pupa menjadi imago. Data dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Dunnett 5%. Untuk L2, kematian larva dihitung dan dilakukan analisis probit dengan software POLO-PC sehingga diperoleh nilai konsentrasi (LC₅₀ and LC₉₅) dan waktu letalnya (LT₅₀ and LT₉₅). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Kipahit efektif pada konsentrasi 1% yang mampu menyebabkan kematian, penurunan bobot pupa dan menghalangi terbentuknya pupa serta daya tetas pada larva *C. bezziana*. Studi ini dapat ditindaklanjuti dengan melakukan uji *in vivo* pada ternak yang terserang myiasis.

Kata Kunci: *Tithonia diversifolia*, Myiasis, *Chrysomya bezziana*, Biolarvasidal

PENDAHULUAN

Penyakit myiasis atau belatungan adalah infestasi larva lalat (Diptera) pada jaringan hidup. Penyakit ini bersifat zoonosis, menyerang semua jenis hewan vertebrata yang berdarah panas dan manusia. Infestasi larva diawali pada daerah kulit yang terluka, selanjutnya larva bergerak lebih dalam sampai ke jaringan otot dan membuat terowongan sehingga menyebabkan daerah luka tersebut bengkak dan semakin lebar (Wardhana 2006). Kondisi ini mengakibatkan penderita mengalami demam karena reaksi radang, suhu tubuh meningkat, nafsu makan berkurang dan anemia (Humphrey et al. 1980; Barhoom et al. 1998; Talari et al. 2002). Ternak yang menderita myiasis akan mengalami penurunan produksi susu dan daging bahkan gangguan reproduksi apabila menyerang pada daerah genital (Traversa & Otranto 2006).

Berdasarkan geografi penyebarannya, agen primer penyebab miasis terbagi menjadi tiga, yaitu *Cochliomya hominivorax* (*The New World Screwworm Fly*-NWSF) yang tersebar di benua Amerika, *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) yang tersebar di Eropa hingga Cina dan *Chrysomya bezziana* (*The Old World Screwworm Fly*-OWSF) yang tersebar di kawasan Afrika bagian tropis dan subtropis, subkontinen India, Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Papua Nugini. Ketiga agen penyakit tersebut bersifat parasit obligat, yaitu larva lalat hanya tumbuh di dalam jaringan hidup. (Gealh et al. 2009; Hall & Farkas 2000; Spradbery 1991).

Umumnya upaya pengendalian myiasis selama ini menggunakan insektisida sintetik seperti Asuntol[®], Diazinon[®], Fention[®], Fampur[®], dan Fenklorpos[®] melalui pengobatan topikal (efek cerna) dan perendaman (*dipping*-efek kontak) (Wardhana 2006). Namun penggunaan insektisida sintetik terbukti menimbulkan dampak negatif seperti berkembangnya ras resisten, terbunuhnya musuh alami hama, keracunan pada manusia dan ternak peliharaan, kanker, residu pada daging dan susu, dan pencemaran lingkungan (De Roos et al. 2003). Oleh karena itu, perlu suatu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan, dapat disiapkan sendiri oleh petani dengan bahan yang tersedia di alam dan biaya yang terjangkau. Salah satu alternatifnya adalah dengan menggunakan insektisida asal tumbuhan yang biasa disebut insektisida nabati.

Kajian sebelumnya membuktikan bahwa keluarga tanaman yang bersifat sebagai insektisida nabati adalah Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, Piperaceae, dan Rutaceae. Adapun diantara keluarga Asteraceae yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi insektisida nabati adalah tanaman Kipahit (*Tithonia diversifolia* A Gray). Tanaman ini mengandung senyawa golongan

alkaloid, seskuiterpenlaktone, monoterpen bisiklik (α -pinene dan β -pinene) dan golongan flavonoid yang menyebabkan mortalitas pada serangga (Pereira et al. 1997; Ibrahim et al. 2001; Moronkola et al. 2007; Oyewole et al. 2008). Disamping itu, Kipahit dilaporkan mempunyai sifat toksik dan anti makan (*antifeedant*) pada serangga sehingga menghambat perkembangan dan memutus siklus hidup serangga tersebut (Rahayu 2007; Ambrosio et al. 2008). Laporan lain menyebutkan bahwa Kipahit juga menunjukkan aktivitas sebagai anti bakteri, anti protozoa dan telah dicoba secara tradisional sebagai bahan pestisida alami untuk mengusir hama pertanian, belalang, dan kutu dengan hasil yang cukup efektif (Sulistijowati & Gunawan 2001; Kuroda et al. 2007; Castillo-Juárez et al. 2009, Oyedokun et al. 2011).

Meskipun dalam beberapa studi telah mengindikasikan bahwa Kipahit berpotensi sebagai insektisida nabati, tetapi keefektifannya terhadap larva penyebab myiasis belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efektifitas ekstrak daun Kipahit sebagai biolarvasidal pada larva lalat *C. bezziana*.

MATERI DAN METODE

Sampel larva *C. bezziana*

Larva *C. bezziana* yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni laboratorium Entomologi, Departemen Parasitologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor, Indonesia. Koloni tersebut dipelihara berdasarkan metode Sukarsih et al. (2000).

Pembuatan simplisia dan ekstrak metanol daun *T. diversifolia* (Kipahit)

Daun Kipahit dikoleksi dari Cipanas, Jawa Barat. Daun segar dicuci dan dibersihkan dari kotoran, selanjutnya dikeringkan dalam suhu kamar (kurang lebih selama 2 minggu). Daun yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah tertutup rapat di tempat kering.

Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi daun Kipahit dengan perbandingan antara simplisia dan pelarut (metanol), yaitu 1 : 10. Simplisia yang telah direndam, dikocok dengan alat *shaker* selama dua jam. Supernatan dipisahkan dengan kertas saring dan ampasnya diekstraksi kembali menggunakan pelarut yang sama. Volume pelarut yang digunakan setengah dari volume yang pertama. Setelah disaring, seluruh supernatan dikumpulkan dan diuapkan diatas waterbath pada suhu 60-70°C sampai diperoleh sediaan seperti pasta yang pekat.

Media

Dua jenis media digunakan pada penelitian ini, baik untuk pertumbuhan larva di laboratorium maupun untuk uji biologis. Kedua media tersebut harus disediakan dalam bentuk segar.

Media Meat-Blood Mixture (MBM) digunakan untuk pemeliharaan L1 yang baru menetas dari telur. Sebanyak 15 g daging sapi segar digiling dan dicampurkan dengan 30 mL darah sapi segar hingga homogen (Sukarsih et al. 2000). Media ini juga digunakan untuk uji efektifitas ekstrak metanol daun Kipahit pada L1.

Larval Rearing Media (LRM) dibuat berdasarkan formula Sukarsih et al. (2000) dengan melakukan modifikasi, yaitu mengganti tepung darah dengan darah segar yang dikoleksi dari Rumah Potong Hewan (RPH) dan mengganti *water lock gel* dengan serbuk kertas CF100. Sebanyak 450 g darah sapi segar beku (marus) digiling menggunakan *blender* hingga homogen. Selanjutnya, sebanyak 45 gram susu skim, 45 g tepung telur *ex Belovo* (PT. Benhmeyer, Jakarta), 50 g CF 100 (serbuk kertas), 1,0 mL formalin 10%, dan 980 mL akuades ditambahkan kedalam *blender* tersebut dan dicampur hingga homogen. Media ini juga digunakan untuk uji efektifitas ekstrak metanol daun Kipahit pada L1 dan L2.

Perlakuan

Uji efektifitas ekstrak metanol daun Kipahit terhadap larva *C. bezziana* dilakukan pada instar I (L1), II (L2), dan III (L3). Pengujian terhadap L1 dan L2 ditujukan untuk mempelajari efek larvasida yang bersifat racun cerna, sedangkan pengujian terhadap L3 ditujukan untuk mempelajari efek larvasida yang bersifat racun kontak.

Sebanyak tiga konsentrasi ekstrak metanol daun Kipahit diuji dan dua perlakuan kontrol sebagai berikut:

- P0 = Akuades sebagai kontrol negatif + DMSO 1%
- PI = Ekstrak metanol daun Kipahit 0,5% + DMSO 1%
- PII = Ekstrak metanol daun Kipahit 1,0% + DMSO 1%
- PIII = Ekstrak metanol daun Kipahit 2,0% + DMSO 1%
- PIV = Asuntol 0,05% sebagai kontrol positif + DMSO 1%

Tiap-tiap perlakuan terdiri dari lima ulangan dan masing-masing ulangan digunakan larva sebanyak 20 larva (berlaku untuk semua instar).

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L1

Media MBM yang telah dicampur ekstrak metanol daun Kipahit dengan konsentrasi tertentu diletakkan di dalam kontainer plastik berukuran 18,5 x 13,5 x 4,5 cm. Sebanyak 20 L1 per ulangan diletakkan di atas media dan dipelihara pada ruangan dengan suhu 30-32°C. Larva yang masih hidup sampai hari kedua dipindahkan ke kontainer plastik yang baru dan dipelihara pada media LRM sampai menjadi pupa dan menetas menjadi imago (Wardhana et al. 2004).

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L2

Media yang digunakan untuk uji ini adalah LRM yang telah dicampur dengan ekstrak metanol daun Kipahit dengan konsentrasi tertentu. Sebanyak 215 g LRM dimasukkan ke dalam masing-masing kontainer plastik yang berukuran 18,5 x 13,5 x 4,5 cm. Sejumlah 20 L2 per ulangan diinfestasikan pada media tersebut dan diamati perkembangannya hingga menjadi pupa dan imago (Wardhana et al. 2004).

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L3

Uji ini dilakukan di dalam pot obat yang berisi ekstrak metanol dengan konsentrasi tertentu. Sebanyak 20 larva per ulangan direndam dalam masing-masing larutan perlakuan (10 mL) selama 10 detik, kemudian ditiriskan menggunakan saringan aluminium. Selanjutnya L3 di letakkan di atas kertas saring dan dipindahkan ke dalam kontainer plastik yang berisi *vermiculite*. Larva-larva tersebut diinkubasi pada suhu 30-32°C sampai menjadi pupa dan menetas menjadi imago (Spradbery et al. 1983).

Peubah dan analisis data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Peubah yang diamati pada uji ini adalah jumlah kematian larva, bobot pupa dan daya tetasnya menjadi imago. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan program STAT versi 2,6. Apabila terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Dunnett dengan taraf signifikan 5% (Santoso et al. 1991). Hubungan regresi antara konsentrasi minyak atsiri dan tingkat mortalitas larva dianalisis menggunakan analisis probit dengan program POLO-PC *Software*, sehingga diperoleh konsentrasi letal (LC₅₀ dan LC₉₅) dan waktu letal (LT₅₀ dan LT₉₅) dengan selang kepercayaan 95% (Priyono 1988).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji ekstrak metanol daun Kipahit dilakukan pada stadium larva *C. bezziana* yang berbeda dengan tujuan untuk menggambarkan efektifitasnya pada kondisi fisiologis larva yang berbeda. Hal ini terkait dengan proses perkembangan lapisan kulit yang menjadi bagian mekanisme pertahanan tubuh. Dalam perkembangannya di alam, L1 dan L2 sangat tergantung pada pakan yang mengandung protein tinggi, sedangkan pada L3 dipengaruhi oleh lingkungan. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstrak metanol daun Kipahit dicampurkan kedalam media untuk menggambarkan efek racun cerna, sedangkan untuk L3 digunakan metode celup sehingga dapat menggambarkan adanya efek racun kontak pada insektisida yang diuji. Permukaan kulit L3 akan kontak dengan insektisida dan dapat meninggalkan residu sehingga akan mempengaruhi pembentukan pupa dan daya tetas menjadi lalat dewasa.

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L1

Persentase jumlah rata-rata L1 yang berhasil menjadi pupa pasca pemberian ekstrak metanol daun Kipahit adalah 18,56% (3,60/19,40) pada konsentrasi 0,5% (PI) dan 4,12% (0,80/19,40) pada konsentrasi 1% (PII). Adapun konsentrasi 2 % (PIII) memberikan efek yang sama dengan kelompok kontrol positif (PIV), yaitu menyebabkan mortalitas larva 100% sehingga tidak ada yang berhasil menjadi pupa (Tabel 1).

Aktivitas larvasidal ekstrak metanol daun Kipahit juga diamati pada bobot pupa. Analisis statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara PI dengan P0 ($P < 0,05$). Bobot pupa yang dihasilkan adalah 37-42 mg (Tabel 1) dan termasuk kedalam kategori pupa yang normal. Bobot pupa terendah terjadi pada larva yang diberi ekstrak metanol daun Kipahit 1% (PII), yaitu $6,00 \pm 3,67$ mg. Bobot tersebut jauh dari kategori normal sehingga pupa tidak

dapat menetas menjadi imago. Dibandingkan dengan P0, daya tetas pada pada PI hanya sebesar 7,4%.

Penambahan media LRM di hari kedua pada uji L1 bertujuan untuk mencegah terjadinya kekeringan pada media MBM dan menjaga kelembapan media sehingga larva dapat bertahan hidup. Kematian L1 pada PIII banyak ditemukan di bagian dalam media MBM. Keadaan ini diduga karena larva cenderung membuat terowongan ke dalam daging dan memakan media yang telah dicampur dengan ekstrak metanol daun Kipahit sehingga mengalami kematian. Penurunan bobot pupa juga membuktikan bahwa pemberian ekstrak metanol daun Kipahit pada media mampu menyebabkan sistem pencernaan larva terganggu atau mengurangi daya minat makan larva (bersifat *antifeedant*). Gangguan tersebut akan mempengaruhi proses perkembangan pupa menjadi imago bahkan dapat menyebabkan kematian larva. Meskipun beberapa larva pada PII mampu menyelesaikan siklus hidupnya sampai menjadi pupa, tetapi tidak ada yang menetas (Tabel 1).

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L2

Pengaruh pemberian ekstrak metanol daun Kipahit terhadap daya hidup L2 diamati hingga hari keempat pasca pemeliharaan dalam media LRM. Jumlah rata-rata larva yang mati pada tiap-tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Kematian L2 100% pada PIV terjadi pada hari pertama, sedangkan pada PIII terjadi pada hari keempat. Jumlah rata-rata larva yang mati pada PI dan PII semakin hari semakin meningkat.

Kondisi larva yang mati pada PIII umumnya dalam keadaan memanjang dan berada di atas permukaan media. Kematian larva pada PIV banyak ditemukan di dalam media. Ekstrak metanol daun Kipahit diduga mempengaruhi larva dalam mengambil oksigen dari udara sehingga larva cenderung naik ke atas permukaan untuk bernafas dan pembentukan energi metabolik. Beberapa larva yang masih hidup pada PI dan PII.

Tabel 1. Nilai rata-rata dan simpangan kesalahan (SE) jumlah serta bobot pupa *C. bezziana* yang berasal dari L1 dan L2 yang dipelihara dalam media yang mengandung ekstrak metanol daun Kipahit dalam berbagai konsentrasi

Perlakuan	Instar larva					
	L1			L2		
	Jumlah pupa \pm SE	Bobot pupa \pm SE (mg)	Daya tetas \pm SE	Jumlah pupa \pm SE	Bobot pupa \pm SE (mg)	Daya tetas \pm SE
P0	19,40 ^a \pm 0,40	42,00 ^a \pm 1,14	16,20 ^a \pm 0,66	20,00 ^a \pm 0,00	40,60 ^a \pm 1,13	18,20 ^a \pm 0,66
PI	3,60 ^b \pm 0,68	37,17 ^a \pm 1,82	1,20 ^b \pm 0,74	13,00 ^b \pm 0,63	28,62 ^b \pm 0,60	1,80 ^b \pm 0,37
PII	0,80 ^c \pm 0,49	6,00 ^b \pm 3,67	Tidak menetas	2,00 ^c \pm 0,63	2,49 ^c \pm 0,71	Tidak menetas
PIII	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati
PIV	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati

Superskrip a, b, dan c pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT Dunnet ($P < 0,05$)

mempunyai ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan P0. Secara normal, pada hari kelima dan keenam larva akan keluar dari kontainer plastik kemudian menjatuhkan diri ke dalam *vermicullite*. Keadaan ini tidak terjadi pada larva PI dan PII. Gerakan larva lemah dan tidak mampu melewati pembatas kontainer plastik sehingga harus diturunkan secara manual dengan menggunakan pinset.

Hasil rata-rata jumlah dan bobot pupa yang berasal dari L2 pasca pemberian ekstrak metanol daun Kipahit dalam berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah dan bobot pupa yang nyata antara PI dan PII dibandingkan dengan P0. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, semakin sedikit jumlah larva yang berhasil menjadi pupa dan semakin rendah bobot pupa yang dihasilkan. Adapun semua larva pada PIII dan PIV mengalami kematian sehingga tidak dapat membentuk pupa. Hasil ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak metanol daun Kipahit dengan konsentrasi 0,5% sudah mempunyai efek racun perut sehingga jumlah L2 *C. bezziana* pada PI dan PII yang menjadi pupa berkurang secara nyata, yaitu berturut-turut sebesar 65 dan 10%. Hasil yang serupa juga terjadi pada daya tetas pupa. Hanya sekitar 13,85% (1,80/13,00) dari larva PI yang berhasil menjadi pupa mampu menetas menjadi imago (Tabel 1).

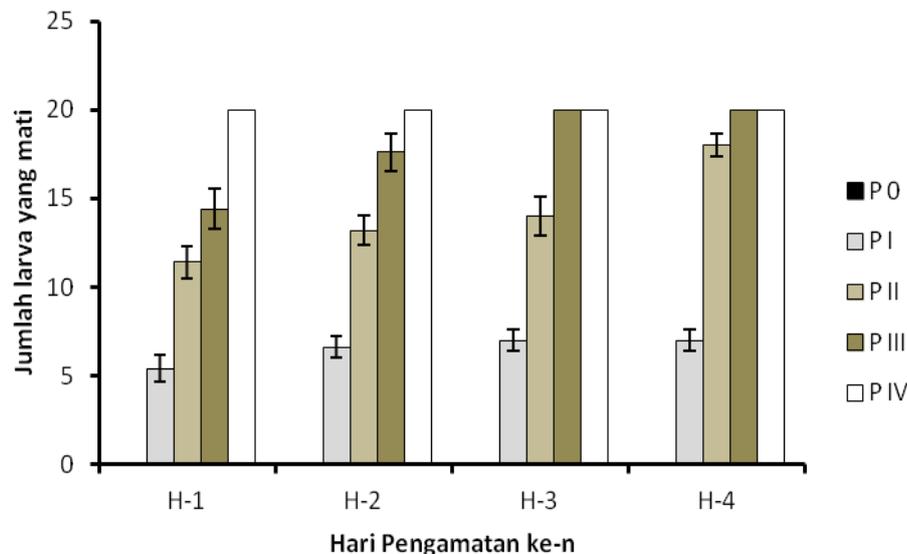
Berdasarkan hasil analisis jumlah, bobot pupa dan daya tetas terhadap efek racun cerna pada L2

mengindikasikan bahwa konsentrasi 1% (PII) merupakan konsentrasi yang efektif karena bobot pupa yang dihasilkan tidak memungkinkan untuk menetas menjadi imago dan mortalitas larva mencapai 72-90%.

Analisis probit pada L2

Analisis probit konsentrasi letal (LC_{50} dan LC_{95}) terhadap L2 dilakukan hingga hari keempat. Waktu tersebut adalah waktu maksimal pertumbuhan dari L2 menjadi L3 hingga menjelang terjadinya pupa. Semakin lama hari pengamatan membutuhkan nilai LC_{50} dan LC_{95} yang semakin rendah. Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak methanol daun Kipahit yang mampu membunuh 50% (LC_{50}) dan 95% (LC_{95}) populasi L2 yang diuji, masing-masing 0,61328% dan 1,3658% pada hari keempat (Tabel 2).

Kecepatan ekstrak methanol daun Kipahit dalam membunuh larva (waktu letal/LT) juga dianalisis pada tiap-tiap konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin cepat larva mengalami kematian. Berdasarkan analisis terhadap waktu letalnya menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak methanol daun Kipahit 2% (PIII) mampu membunuh 50% (LT_{50}) dan 95% (LT_{95}) populasi L2 yang diuji, masing-masing pada waktu kurang dari sehari (0,7043 hari) dan kurang dari tiga hari (2,2152 hari) (Tabel 2)



Gambar 1. Grafik kematian larva instar II (L2) *C. bezziana* pada pengamatan hari ke-n yang dipelihara dalam media LRM yang mengandung ekstrak metanol daun Kipahit pada berbagai konsentrasi

Tabel 2. Nilai konsentrasi letal (*Lethal Concentration/LC*) dan waktu letal (*Lethal Time/LT*) *C. bezziana* berdasarkan analisis probit pada waktu pengamatan dan konsentrasi yang berbeda-beda

Hari	Konsentrasi letal (%)		Perlakuan	Waktu Letal (hari)	
	LC ₅₀	LC ₉₅		LT ₅₀	LT ₉₅
1	0,9313	6,3191	PI	31,9861	TD
2	0,7560	3,1557	PII	0,8370	27,0166
3	0,6583	1,6717	PIII	0,7043	2,2152
4	0,6132	1,3658	PIV	TD	TD

TD = Tidak dianalisis

Uji ekstrak metanol daun Kipahit pada L3

Pengujian aktivitas ekstrak metanol daun Kipahit pada L3 ditujukan untuk mengetahui efek racun kontak. Hasil bobot pupa dan daya tetas pupa pasca perendaman dalam larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi selama 10 detik dapat dilihat pada Tabel 3. Lama waktu ini dapat dianalogikan dengan aplikasi pencegahan dan pengobatan ektoparasit di lapang, yaitu ternak-ternak yang menderita miasis akan direndam selama sekitar 10 detik di dalam kolam yang mengandung larutan insektisida. Hal tersebut dimaksudkan agar bahan aktif ekstrak metanol daun Kipahit akan kontak dan berpenetrasi ke dalam permukaan kulit larva (Spradbery et al. 1983).

Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bobot pupa yang nyata antara kelompok larva yang diberi ekstrak metanol daun Kipahit (PI, PII, dan PIII) dengan kelompok kontrol (P0 dan PIV). Perendaman larva selama 10 detik mampu menurunkan bobot pupa PI, PII dan PIII secara berturut-turut, yaitu 28,61%, 33,60% dan 33,86% (Tabel 3). Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak metanol daun Kipahit dengan konsentrasi 0,5% mempunyai efek racun kontak yang nyata sehingga mampu menurunkan bobot pupa. Bobot pupa P0 yang diperoleh adalah 38,10 mg dan tergolong pada kategori bobot pupa yang normal, sedangkan bobot pupa PIV sebesar 18,80 mg.

Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman Kipahit dan bersifat larvasidal adalah seskuiterpenoid lakton (Pereira et al. 1997; Goffin et al. 2003). Senyawa ini termasuk monoterpen yang berperan penting dalam pertahanan tumbuhan terhadap serangan serangga atau patogen lainnya. Sulistijowati & Gunawan (2001) berhasil mengidentifikasi 12 senyawa terpenoid, 14 senyawa flavonoid dan gula dengan metode kromatografi lapis tipis. Senyawa monoterpen (α -pinine), sesquiterpen, falvonoid, triophenes dan

senyawa yang bersifat minyak lainnya mampu membuka lapisan *lipid bilayer* yang terdapat di kutikula sehingga mengakibatkan cairan membran meningkat dan permeabilitas sel otot terganggu. Kondisi ini akan melemahkan gerakan serangga dan berakhir dengan kematian (Ivanice et al. 2004). Menurut Ibrahim et al. (2001) senyawa monoterpen bersifat toksik dan masuk melalui lapisan kutikula (racun kontak), saluran pernafasan dan saluran pencernaan (racun cerna). Asam palmitat yang terkandung dalam daun Kipahit dilaporkan bersifat *antifeedant* sehingga serangga kehilangan nafsu makannya (Prarifitriya 2006).

Meskipun ekstrak metanol daun Kipahit 0,5% telah menunjukkan potensi sebagai biolarvasidal terhadap larva *C. bezziana*, tetapi konsentrasi yang efektif adalah 1%, yaitu mempunyai efek racun cerna dan kontak pada semua stadium larva. Konsentrasi ini mampu menyebabkan kematian, penurunan bobot pupa dan hambatan terhadap pembentukan pupa dan daya tetas. Pernyataan ini sesuai dengan laporan Ibrahim et al. (2001) yang menyebutkan bahwa monoterpen (α -pinine) mampu menghambat perkembangan larva dan pembentukan pupa pada lalat *Musca domestica*.

Beberapa penelitian biolarvasidal yang berbasis tanaman terhadap larva *C. bezziana* telah dilaporkan tetapi masih memiliki kelemahan. Ekstrak heksan daging biji srikaya (*Annona squamosa*) hanya efektif untuk racun cerna dan tidak memiliki efek racun kontak (Wardhana et al. 2004). Demikian pula ekstrak air daun mindi (*Melia azedarach*) yang tidak memiliki efek racun kontak sehingga tidak dapat membunuh L3 (Muharsini et al. 2004). Minyak atsiri daun sirih (*Piper betle*) dilaporkan efektif sebagai biolarvasidal, tetapi uji yang dilakukan hanya menggunakan L1 *C. bezziana* (Wardhana et al. 2007). Hasil-hasil diatas berbeda dengan ekstrak metanol daun Kipahit yang terbukti mempunyai efek racun cerna dan kontak pada semua stadium larva.

Tabel 3. Nilai rata-rata dan simpangan kesalahan (SE) bobot pupa *C. bezziana* pasca perendaman larutan yang mengandung ekstrak metanol daun Kipahit dalam berbagai konsentrasi selama 10 detik

Perlakuan	L3		
	Jumlah pupa ± SE	Bobot pupa ± SE (mg)	Daya tetas ± SE
P0	20,00±0,00	38,10 ^a ±0,29	17,20 ^a ±0,49
PI	20,00±0,00	27,20 ^b ±0,46	4,80 ^b ±1,11
PII	20,00±0,00	25,30 ^b ± 0,85	2,40 ^c ±1,12
PIII	20,00±0,00	25,20 ^b ±0,46	1,60 ^c ±0,51
PIV	20,00±0,00	18,80 ^c ±1,75	0,40 ^c ±0,25

Superskrip a, b, dan c pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT Dunnet ($P < 0,05$).

Mekanisme kerja efek racun cerna terhadap L1 dan L2 terjadi ketika senyawa aktif ekstrak daun Kipahit termakan oleh larva. Efek racun cerna ini sebagian besar berlangsung dalam dinding mesenteron (saluran pencernaan bagian tengah) yang tersusun dari sel-sel epitelium. Senyawa aktif tersebut akan mempengaruhi saluran pencernaan larva dengan cara mematikan sel-sel dalam mesenteron akibat terhalangnya pembentukan energi, sehingga menyebabkan penyerapan nutrisi menjadi kurang optimal (Priyono 1988).

Berbeda dengan efek racun cerna, penyerapan insektisida yang berefek racun kontak sebagian besar terjadi pada kutikula. Senyawa aktif ekstrak metanol Kipahit akan berpenetrasi ke dalam tubuh larva, selanjutnya ke lapisan yang lebih dalam dan menuju hemolimpa, kemudian disebarkan ke seluruh bagian tubuh larva. Keadaan ini akan menyebabkan gangguan metabolisme tubuh *C. bezziana*, yang mengakibatkan kematian apabila senyawa tersebut mempunyai toksitas yang tinggi (Priyono 1988).

Laporan lain menyebutkan bahwa senyawa seskuiterpenoid laktone bersifat menghambat enzim asetilkolinesterase. Secara fisiologis, asetilkolin yang dibentuk oleh sistem syaraf berfungsi untuk menghantarkan impuls dari sel syaraf ke sel otot. Proses ini dihentikan oleh enzim asetilkolinesterase yang memecah asetilkolin menjadi asetil ko-A dan kolin. Terhambatnya kerja enzim ini mengakibatkan terjadinya penumpukan asetilkolin yang menyebabkan terjadinya gangguan pada sistem penghantar impuls ke otot. Akibatnya otot menjadi kejang, selanjutnya terjadi kelumpuhan dan berakhir dengan kematian (Hadi 2008; Ibrahim et al. 2013). Mekanisme ini diduga juga dapat menjelaskan kematian larva *C. bezziana* pada pemberian ekstrak metanol daun Kipahit.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol daun Kipahit pada konsentrasi 1% (PII) mempunyai efek racun cerna dan racun kontak yang efektif sebagai biolarvasidal terhadap larva

C. bezziana, sehingga mampu menyebabkan kematian, penurunan bobot pupa dan menghalangi terbentuknya pupa serta daya tetas menjadi imago. Hasil studi ini dapat dilanjutkan dengan membuat sediaan biolarvasidal yang aplikatif kemudian diuji keefektifannya secara *in vivo* menggunakan ternak yang menderita myiasis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Yuningsih BSc, Eko Prasetyo, Farlin Nefo dan Yulia yang telah banyak memberikan bantuan secara teknis di laboratorium selama penelitian ini berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ros Sumarny, MS., Apt atas sarannya melalui diskusi-diskusi yang bersifat kritis dan membangun. Penelitian ini didanai oleh International Atomic Energy Agency (IAEA).

DAFTAR PUSTAKA

- Ambrosio SR, Oki Y, Heleno VC, Chaves JS, Nascimento PG, Lichston JE, Constantino MG, Varanda EM, Da Costa FB. 2008. Constituents of glandular trichomes of *Tithonia diversifolia*: relationships to herbivory and antifeedant activity. *Phytochemistry*. 69:2052-2060.
- Barhoom SS, Khalaf AM, Kadhim FS. 1998. Aetiological and clinical findings of cutaneous myiasis in domestic animals in Iraq. *Iraqi J Vet Sci*. 11:31-44.
- Castillo-Juárez I, González V, Jaime-Aguilar H, Martínez G, Linares E, Bye R, Romero I. 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *J Ethnopharmacol*. 122:402-405.
- De Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP, Weisenburger DD, Holmes FF., Burmeister L F, Blair A. 2003. Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occupation Environment Medic*. 60:e11.

- Gealh WC, Ferreira GM, Farah JG, Teodoro U, Camarini ET. 2009. Treatment of oral myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax*, two cases treated with ivermectin. *Br J Oral Maxillofacial Surgery*. 47:23-26.
- Goffin E, Proenca da Cunha P, Ziemons E, Tits M, Angenot L, Frederich M. 2003. Quantification of tagitinin C in *Tithonia diversifolia* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochem Anal.* 14:378-380.
- Hadi M. 2008. Pembuatan kertas anti rayap ramah lingkungan dengan memanfaatkan ekstrak daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum*). *BIOMA*. 6:12-18.
- Hall MJR, Farkas R. 2000. Traumatic myiasis of humans and animals. Chapter 1.18, pages 751-768, *In "Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera" Volume 1. General and Applied Dipterology, Editors, L Papp, B Darvas, Science Herald, Budapest. p. 978.*
- Humphrey JD, Spradbery JP, Tozer RS. 1980. *Chrysomya bezziana*, pathology of Old World screw-worm fly infestations in cattle. *Experiment Pathol.* 49:381-397.
- Ibrahim MA, Kainulainen P, Aflatuni A, Tiilikkala K, Halopainen JK. 2001. Insecticidal, Repellent, Antimicroba Activity and Phytotoxicity of Essential Oils: With Special Reference to Limonene and its Suitability for Control of Insect Pest. *Agric Food Sci Finl.* 10:243-259.
- Ibrahim M, Tahir F, Nusrat H, Amjad H, Tahsin G, Iqbal H, Muhammad SHA, Fouzia SR. 2013. Acetyl and butyryl cholinesterase inhibitory sesquiterpene lactone from *Amberboa ramosa*. *Chemist Central J.* 7:1-5.
- Ivanice MC, Sarti SJ, Waib CM, Branco Jr AC. 2004. Evaluation of the Potential Insecticide activity of *Tegetes minuta* (Asteraceae) Essential Oil Against the head Lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Neotropic Entomol.* 33:805-807.
- Kuroda M, Yokosuka A, Kobayashi R, Jitsuno M, Kando H, Nosaka K, Ishii H, Yamori T, Mimaki Y. 2007. Sesquiterpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Tithonia diversifolia* and their cytotoxic activity. *Chemest Pharmacol Bulletin.* 55:1240-1244.
- Moronkola DO, Ogunwande IA, Walker TM, Setzer WN, Oyewole IO. 2007. Identification of the main volatile compounds in the leaf and flower of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *J Nat Medic.* 61:63-66.
- Muharsini S, Wardhana AH, Sani Y. 2004. Studi pendahuluan ekstrak air daun mindi (*Melia azedarach*) terhadap larva lalat *Chrysomya bezziana* secara *in vitro*. Thalib A, Sendow I, Purwadaria T, Tarmudji, Darmono, Triwulanningsih E, Beriajaya, Natalia L, Nurhayati, Ketaren PP, Priyanto D, Iskandar S, Sani Y, penyunting. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor (Indonesia): Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. hlm. 689-693.
- Oyedokun AV, Anikwe JC, Okelana FA, Mokwunye IU, Azeez OM. 2011. Pesticidal efficacy of three tropical herbal plants' leaf extracts against *Macrotermes bellicosus*, an emerging pest of cocoa, *Theobroma cacao* L. *J Biopesticides.* 4:131-137.
- Oyewole IO, Ibidapo CA, Moronkola DO, Odulola AO, Adeoye GO, Anyasor GN, Obansa JA. 2008. Antimalarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts. *J Medic Plants Res.* 2:171-175.
- Pereira PS, Aparecida D, Vichnewski W, Nasi AMTT, Herz W. 1997. Sesquiterpene lactones from Brazilian *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry.* 45:1445-1448.
- Prarifitriya. 2006. Uji kerja (joint action) ekstrak daun johar (*Cossiana siamea*) dan paitan (*Tithonia diversifolia*) serta potensi daya racunnya dibandingkan dengan insektisida piretroid terhadap ulat kubis (*Plutella xylostella*) (skripsi S1). [Malang (Indonesia)]: Universitas Brawijaya.
- Prijono D. 1988. Pengujian insektisida. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu. 2007. Pengaruh ekstrak daun paitan (*Tithonia diversifolia*) terhadap mortalitas larvae *Aedes aegypti* Instar III (skripsi S1). [Malang (Indonesia)]: Universitas Islam Negeri.
- Santoso RD, Hasanuddin, Jamaro A. 1991. Program STAT Versi 2.6 (tesis S2). [Bandung (Indones)]: Universitas Padjajaran.
- Spradbery JP. 1991. A manual for the diagnosis of screwworm fly. CSIRO Division of Entomology. Canberra. Australia.
- Spradbery JP, Tozer R, Pond AA. 1983. The efficacy of some acarides against screwworm fly larvae. *Aust Vet J.* 60:57-58.
- Sukarsih, Partoutomo S, Tozer R, Satria E, Wijffels G, Ridding G. 2000. Establishment and maintenance of a colony of the old world screwworm fly *Chrysomya bezziana* at BALITVET in Bogor, West Java, Indonesia. *JITV Special Edition.* 5:144-149.
- Sulistijowati AS, Gunawan D. 2001. Efek ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatogarfinya. *Cermin Dunia Kedokteran.* 30:31-35.
- Talari SA, Moghadam AY, Deghani R. 2002. *Chrysomya bezziana* Infestation. *Arch Iran Medic.* 56-58.
- Traversa D, Otranto D. 2006. A new approach for the diagnosis of myiasis of animals, The example of horse nasal myiasis. *Vet Parasitol.* 14:186-190.
- Wardhana AH, Endang W, Andakan WAW, Sri M, Darmono. 2004. Efficacy test of hexane extract of *Annona squamosa* L seed for *Chrysomya bezziana* larvae growth *in vitro*. *JITV.* 9:272-280.

- Wardhana AH. 2006. *Chrysomya bezziana*, the cause of myiasis on animal and human, Problem and control. *Wartazoa*.16:146-159.
- Wardhana AH, Sujith PWK, Arawwawala LDAM, Arambewela LSR. 2007. Larvacidal efficacy of essential oil of Betel leaf (Piper betle) on the larvae of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana* *in vitro*. *Indian J Dermatol*. 52:43-47.