

PETUNJUK PRAKTIKUM PENGENDALIAN VEKTOR PENYAKIT DAN RESERVOIR

PP/FKM/PVR/VII/R1



Oleh:

Fardhiasih Dwi Astuti, S.KM., M.Sc

Liena Sofiana, S.KM., M.Sc

Rokhmayanti, S.KM., M.PH

**Program Studi Kesehatan Masyarakat
Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Ahmad Dahlan
2021**

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warohmatullahiwarokatu.

Pujisyukur kami panjatkan atas selesainya buku panduan Pengendalian Vektor Penyakit dan Reservoir. Buku ini merupakan buku panduan yang digunakan dalam praktikum Pengendalian Vektor Penyakit dan Reservoir yang berisi materi dan cara pengukuran kepadatan lalat, persiapan bahan uji larva, pembuatan pengujian senyawa botani yang dapat berfungsi sebagai larvasida, pengujian larvasida kimia dan uji suseptibility untuk mengetahui adanya resistensi pada nyamuk. Bagian reservoir dilakukan survey rodent, identifikasi tikus dan ektoparasit pada tikus.

Buku panduan ini digunakan sebagai acuan pengerjaan dan penilaian agar mahasiswa mampu menilai permasalahan vector dan reservoir. Buku ini merupakan revisi pertama dengan adanya penambahan materi pengujian suseptibility metode Botol CDC.

Kami menyadari bahwa buku ini masih banyak kekurangannya, saran dan masukan untuk lebih baikknya buku ini sangat kami harapkan untuk periode yang akan datang.

Kepada semua pihak yang telah membantu terealisasinya buku ini kami ucapkan terimakasih, semoga Allah SWT merahmatinya.

Wassalamualaikum Warohmatullahiwarokatu.

Yogyakarta, 1 November 2021

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	2
DAFTAR ISI	3
SEJARAH REVISI PANDUAN PRAKTIKUM.....	4
PERATURAN PRAKTIKUM	5
PERTEMUAN I PENGUKURAN KEPADATAN DAN PENGENDALIAN LALAT	8
PERTEMUAN II REARING LARVA DAN NYAMUK Aedes Spp.	14
PERTEMUAN III PEMBUATAN INFUSA SEBAGAI LARVASIDA.....	17
PERTEMUAN IV UJI BIOPOTENCY LARVASIDA BOTANI	22
PERTEMUAN V PENGUJIAN LARVASIDA	26
PERTEMUAN VI UJI SUSCEPTIBILITY	29
PERTEMUAN VII SURVEY RODENT.....	38
PERTEMUAN VIII IDENTIFIKASI TIKUS.....	42
PERTEMUAN IX PENGAMBILAN DAN PENGUMPULAN EKTOPARASIT	45

SEJARAH REVISI PANDUAN PRAKTIKUM

Petunjuk Praktikum : Pengendalian Vektor Penyakit Dan Reservoir
Semester : 7 Peminatan Epidemiologi
Program Studi : Kesehatan Masyarakat
Fakultas : Kesehatan Masyarakat

REVISI KE	TANGGAL REVISI	URAIAN REVISI
1	1 November 2021	Penambahan materi pengujian suseptibility metode CDC

PERATURAN PRAKTIKUM

A. KETENTUAN PRAKTIKUM

Ketentuan dalam mengikuti praktikum pengendalian vektor dan reservoir adalah sebagai berikut:

1. Mahasiswa yang mengikuti praktikum adalah mahasiswa yang mengambil mata kuliah praktikum pengendalian vektor dan reservoir dan telah melunasi biaya praktikum dibuktikan dengan bukti pembayaran praktikum melalui bank.
2. Mahasiswa harus melengkapi atribut praktikum meliputi jas praktikum, buku petunjuk praktikum, dan bahan praktikum serta bersedia mengikuti tata tertib selama praktikum ini berlangsung.

B. TATA TERTIB SELAMA PRAKTIKUM

Selama kegiatan praktikum ini berlangsung, mahasiswa harus mengikuti dan mentaati semua peraturan. Adapun tata tertibnya adalah sebagai berikut:

1. Sebelum praktikum berlangsung mahasiswa tidak diperbolehkan memasuki ruang praktikum. Mahasiswa dapat memasuki ruang praktikum apabila telah dipersilahkan oleh laboiran ataupun asisten praktikum.
2. Mahasiswa harus datang tepat waktu, apabila terlambat yaitu 10 menit dari waktu yang seharusnya maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum pada hari itu.
3. Mahasiswa wajib menggunakan jas praktikum dan pakaian yang sopan serta rapi selama kegiatan praktikum berlangsung.
4. Pada saat praktikum berlangsung, mahasiswa wajib menempati tempat duduk sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan.
5. Tas, buku ataupun barang bawaan lainnya yang tidak diperlukan selama praktikum berlangsung untuk dapat diletakkan pada meja dibagian belakang atau diletakkan di loker yang telah disediakan.
6. Setiap kali praktikum akan dilakukan pre test/post test sesuai dengan materi praktikum.
7. Pada saat kegiatan praktikum berlangsung mahasiswa tidak diperbolehkan keluar meninggalkan ruang laboratorium tanpa seizin sisten/laboran/dosen pembimbing.

8. Pada saat praktikum berlangsung mahasiswa tidak diperbolehkan makan dan minum di dalam ruang laboratorium.
9. Pada saat praktikum berlangsung mahasiswa tidak diperbolehkan mengaktifkan alat telekomunikasi.
10. Apabila mahasiswa merusak atau memecahkan alat laboratorium dengan alasan apapun maka diwajibkan mengganti.
11. Mahasiswa wajib membuat laporan praktikum yang telah disahkan oleh asisten ataupun dosen pembimbing.
12. Mahasiswa yang tidak dapat mengikuti kegiatan praktikum pada hari yang telah ditentukan, maka dapat menunjukkan surat ijin atau surat sakit dan harus mengulang di hari lain atau mengikuti inhal.
13. Apabila mahasiswa tidak mengikuti kegiatan praktikum sebanyak $\geq 30\%$ dari materi praktikum maka mahasiswa atau praktikan dinyatakan gagal dan dapat mengulang pada tahun berikutnya.

C. PEMBUATAN LAPORAN PRAKTIKUM

Laporan praktikum dibuat dalam bentuk naskah publikasi yang mencakup hal-hal berikut:

1. Judul
2. Abstrak
3. Pendahuluan
4. Bahan dan Metode
5. Hasil
6. Pembahasan
7. Kesimpulan dan Saran
8. Daftar Pustaka

Panduan penulisan naskah mengikuti template Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit (VEKTORA). Template dapat diunduh pada website:

<https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/vk/template>

D. MATERI PRAKTIKUM

Materi praktikum yang akan dilaksanakan dalam waktu satu semester adalah sebagai berikut:

1. Pengukuran dan pengendalian kepadatan lalat
2. Rearing Larva dan nyamuk dewasa
3. Pembuatan Infusa Larvasida
4. Uji Biopotency Larvasida Botani
5. Uji Resistensi Larvasida
6. Uji Suseptibility
7. Survey Rodent

PERTEMUAN I PENGUKURAN KEPADATAN DAN PENGENDALIAN LALAT

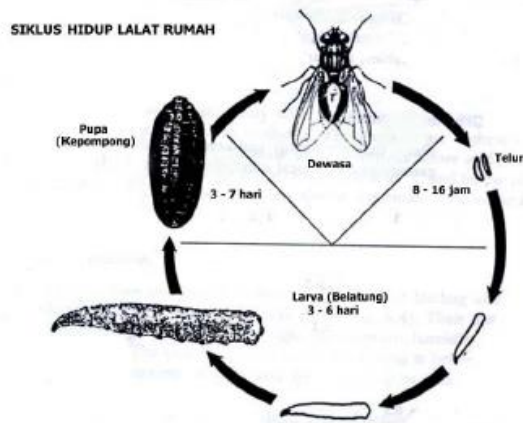
A. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Mahasiswa dapat melakukan pemantauan dan pengukuran kepadatan lalat
2. Mahasiswa mampu melakukan pengendalian lalat sebagai upaya pengelolaan dalam menurunkan kepadatan lalat
3. Mahasiswa mampu menganalisis hasil pemantauan lalat

B. LANDASAN TEORI

1. Karakteristik Lalat

Lalat termasuk kedalam kelas serangga yang mempunyai dua sayap dan merupakan kelompok serangga pengganggu sekaligus sebagai serangga penular penyakit. Lalat mempunyai tingkat perkembangan telur, larva, pupa dan dewasa. Pertumbuhan dari telur sampai dengan dewasa memerlukan waktu 10-12 hari. Larva akan berubah menjadi pupa setelah 4-7 hari, larva yang telah matang akan mencari tempat yang kering untuk berkembang menjadi pupa. Pupa akan berubah menjadi lalat dewasa tiga hari kemudian. Lalat dewasa muda sudah siap kawin dalam waktu beberapa jam setelah keluar dari pupa. Setiap ekor lalat betina mampu menghasilkan sampai 2.000 butir telur selama hidupnya. Setiap kali bertelur lalat meletakkan telur secara berkelompok, setiap kelompoknya mengandung 75-100 telur. Umur lalat di alam diperkirakan sekitar dua minggu. Siklus hidup lalat tersaji dalam gambar 1 berikut:



Gambar 1. Siklus hidup lalat

Lalat memiliki tubuh beruas-ruas dengan tiap bagian tubuh terpisah dengan jelas. Anggota tubuhnya berpasangan dengan bagian kanan dan kiri simetris, dengan ciri khas tubuh terdiri dari 3 bagian yang terpisah menjadi kepala, thoraks dan abdomen, serta mempunyai sepasang antena (sungut) dengan 3 pasang kaki dan 1 pasang sayap.

Tempat yang disukai lalat rumah untuk meletakkan telur adalah manur, feses, sampah organik yang membusuk dan lembab. Adapun lalat hijau berkembang biak di bahan yang cair atau semi cair yang berasal dari hewan, daging, ikan, bangkai, sampah hewan, dan tanah yang mengandung kotoran hewan. Lalat hijau juga meletakkan telur di luka hewan dan manusia.

2. Faktor yang mempengaruhi kepadatan lalat

Perkembangan lalat dan kepadatannya dipengaruhi oleh beberapa faktor, berdasarkan penelitian menyatakan bahwa cuaca/iklim merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh cukup besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan serangga. Peningkatan suhu di suatu wilayah dapat menjadi salah satu ancaman dalam perkembangan serangga ini sehingga menjadi ancaman akibat yang ditimbulkan bagi kesehatan. Selain itu keberadaan sampah dan kandang ternak disekitar juga dapat memicu kepadatan lalat. Berdasarkan penelitian menjelaskan bahwa tempat pembuangan akhir memiliki tingkat

kepadatan tinggi (sebesar 37,2) dan keberadaan kandang dengan indeks kepadatan lalat

3. Pengukuran kepadatan lalat

Indeks populasi lalat adalah angka rata-rata populasi lalat pada suatu lokasi yang diukur dengan menggunakan *flygrill*. Dihitung dengan cara melakukan pengamatan selama 30 detik dan pengulangan sebanyak 10 kali pada setiap titik pengamatan. Dari 10 kali pengamatan diambil 5 (lima) nilai tertinggi, lalu kelima nilai tersebut dibuat rata-rata. Pengukuran indeks populasi lalat dapat menggunakan lebih dari satu *flygrill*.

4. Intervensi pengendalian kepadatan lalat

Intervensi sebagai upaya pengendalian kepadatan lalat dapat menggunakan beberapa cara baik secara kimiawi ataupun alami secara botani.

- a. Insektisida dapat digunakan sebagai cara untuk menurunkan kepadatan lalat. Apabila didalam rumah dapat menggunakan insektisida pyretrum dan jika diluar rumah dapat menggunakan malathion.
- b. Senyawa botani yang mengandung insektisida alami, seperti serai, pandan, kemangi, lavender dan lain-lain
- c. Secara biologi dengan pengelolaan sanitasi lingkungan.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat dan bahan yang harus dipersiapkan dalam mengukur kepadatan lalat dan pengendaliannya adalah sebagai berikut:

- a. *Block grill*
- b. *Counter*
- c. Alat tulis
- d. Alat pelindung diri
- e. *Stopwatch*
- f. Bahan alami/pestisida yang akan digunakan untuk pengendalian kepadatan lalat.

D. CARA KERJA

Prosedur kerja yang akan dilakukan untuk mengukur kepadatan dan pengendalian alat adalah sebagai berikut:

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Carilah lokasi yang akan dijadikan objek dalam pengamatan kepadatan lalat.
3. Letakkan *block grill* pada tempat yang telah ditentukan
4. Lakukan pengamatan, selama pengamatan lakukan penghitungan dan pencatatan jumlah lalat yang hinggap selama 30 detik pengamatan menggunakan *stopwatch* dan *counter*.
5. Lakukan pengulangan selama 10 kali, kemudian gunakan 5 data dengan jumlah tertinggi, dan hitung rata-ratanya.
6. Lakukan pengendalian lalat sesuai dengan pilihan dari kelompok masing-masing.
7. Lakukan hal yang sama dalam pengamatan dan penghitungan kepadatan lalat setelah dilakukan intervensi.

E. HASIL PENGUJIAN

Data yang didapat berdasarkan observasi kemudian dilakukan pencatatan dan analisis hasil yaitu dengan:

- ## 1. Pencatatan hasil pengamatan

Hasil pengamatan yang dilakukan kemudian dicatat pada tabel.

Tabel 1. Hasil perhitungan pada pengamatan pertama sebelum intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah lalat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

Tabel 2. Hasil perhitungan pada pengamatan kedua sebelum intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah alat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

Tabel 3. Hasil perhitungan pada pengamatan ketiga sebelum intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah lalat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

Tabel 4. Hasil perhitungan pada pengamatan pertama setelah intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah lalat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

Tabel 5. Hasil perhitungan pada pengamatan kedua setelah intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah lalat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

Tabel 6. Hasil perhitungan pada pengamatan ketiga setelah intervensi

Detik ke-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Jumlah lalat										
Perhitungan	Rata-rata pengamatan 1 =									

2. Analisis kepadatan

Hasil pengamatan yang telah dilakukan kemudian dianalisis kepadatannya sesuai dengan kriteria. Adapun interpretasi berdasarkan kriteria adalah sebagai berikut:

- 0 – 2 : Tidak menjadi masalah (rendah)
- 3 – 5 : Populasi sedang, perlu dilakukan pengamanan tempat berkembang biaknya (sampah, kotoran hewan, dll)
- 6 – 20 : Populasinya padat, perlu dilakukan pengamanan tempat berbiaknya lalat dan bila mungkin direncanakan upaya pengendaliannya

- d. >20 : Populasinya sangat padat, perlu dilakukan pengamanan terhadap tempat berbiak lalat, serta diadakan tindakan pengendalian.

3. Analisis pre dan post

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan intervensi dianalisis dengan metode pre dan post test. Analisis ini dapat menggunakan uji statistik.

PERTEMUAN II REARING LARVA DAN NYAMUK *Aedes Spp.*

A. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Mahasiswa mampu melakukan pemeliharaan larva yang akan digunakan dalam pengujian larvasida
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeliharaan larva sampai nyamuk dewasa yang akan digunakan pengujian.

B. LANDASAN TEORI

Nyamuk merupakan serangga yang berperan dalam penularan penyakit. *Aedes* berperan sebagai penular virus Dengue, Zika, Cikungunya. Culek sebagai penular Japnes ensepalitis, Saint Louis encephalitis viruses, filariasis dan lain lain. Percobaan yang dilakukan di laboratorium sangat membutuhkan hewan uji yang sehat untuk berbagai pengujian di laboratorium. Pengujian di laboratorium meliputi biologi vektor, interaksi vektor dan patogen, pengendalian vektor membutuhkan koloni nyamuk yang sesuai standart. Faktor faktor yang mempengaruhi daya tahan nyamuk seperti suhu, kelembaban, ketersediaan makanan, kepadatan populasi, pemberian makan darah dan perilaku kawin dan bertelur (Kauffman *et al.*, 2017)

Faktor yang penting dalam pemeliharaan nyamuk adalah suhu dan kelembaban. Suhu dapat di kontrol dengan mengatur kondisi ruangan pada suhu $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. kelembaban dapat di atur dengan pemberian handuk basah yang menutupi kandang (Imam *et al.*, 2014).

C. ALAT DAN BAHAN

1. Nampan plastik
2. Pipet plastik
3. Cup plastik
4. Kertas saring
5. Botol kecil untuk air gula
6. Air gula 10%
7. Pakan larva: hati ayam kering/ pakan ikan Koi's Choice Premium Fish Food
8. Kandang nyamuk

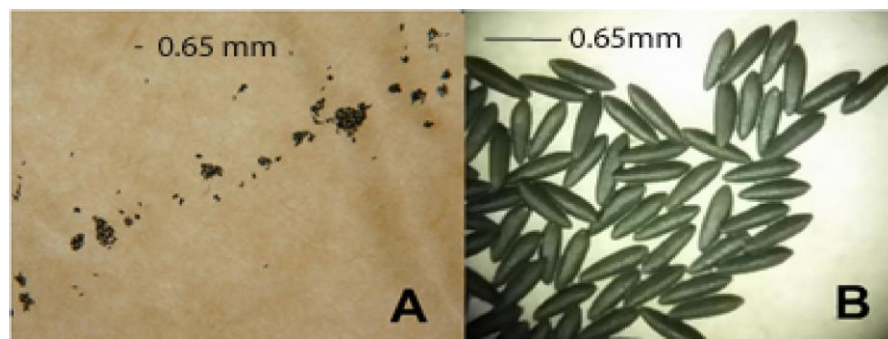
9. Cup nyamuk bersih bertutup nylon mesh 20
10. Aspirator

D. CARA KERJA

Pemeliharaan larva

1. Telur Aedes pada kertas saring dimasukkan dalam air pada nampan berukuran 20x15x5 cm dapat digunakan untuk 1500 larva.
2. Telur akan menetas menjadi larva 1-2 hari.
3. Larva pada nampan diberi makan hati kering atau makan ikan 0,2 gr per nampan jika larva masih instar 1 atau 2. Pemberian 0,4 gram per nampan pada instar 3 dan 4. (pemberian makan secukupnya disesuaikan dengan kepadatan larva). Pastikan pakan larva berada pada dasar air.
1. Larva akan mengalami pergantian kulit sebanyak 4 kali. Ukuran larva instar satu 1–1.5 mm, instar dua, 1.5–3 mm, instar tiga 3–5 mm, instar empat 3.5–7 mm. (jika membutuhkan bahan uji pada instar 3-4 larva dapat diambil dengan pipet plastik)
2. Larva yang berubah menjadi pupa di pisahkan pada cup plastik kecil dan diletakkan pada kandang kain nylon 20x20x20 cm. (pengambilan pupa dilakukan setiap hari)
3. Pada kandang nylon disediakan air gula 10% pada botol yang diberi kapas. Beri hari dan tanggal saat pertama pupa menetas menjadi nyamuk. (jika nyamuk akan digunakan pengujian, ambil nyamuk sesuai kebutuhan pengujian)
4. Masukkan nyamuk dewasa pada Cup plastik bersih yang ditutup kasa nylon.

E. Gambar



Gambar 1. Telur Aedes pada kertas saring



Gambar 2. Pengambilan Larva Aedes spp



Gambar 3. Perbedaan nyamuk Aedes jantan dan betina.

PERTEMUAN III PEMBUATAN INFUSA SEBAGAI LARVASIDA

A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa mampu membuat infusa yang berasal dari bahan alami.

B. LANDASAN TEORI

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman merupakan proses dalam menentukan nama/jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi ini bertujuan untuk mendapatkan suatu spesies se-spesifik mungkin agar tepat sasaran dalam pemanfaatannya.

2. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan.

3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara pengambilan zat aktif yang terdapat dalam simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Teknik ekstraksi ada dua cara yaitu cara tanpa pemanasan dan cara dengan pemanasan. Cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas diantaranya refluks, soxhletasi, digesti, dekokta dan infusa.

4. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan mencari simplisia melalui proses infundasi. Infundasi adalah proses penyaringan yang umumnya digunakan untuk mencari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati/alami. Infundasi dilakukan dengan pemanasan bahan dalam air pada temperature 90°C selama 15 menit. Penyaringan dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang.

Dengan penyarian secara infusa, senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri dapat larut dalam cairan penyari. Karena flavonoid mudah larut dalam air. Tanin termasuk dalam senyawa fenol sehingga tanin dapat larut

pula dalam air. Alkaloid dapat berada dalam bentuk garam sehingga alkaloid kemungkinan dapat larut juga dalam air. Selain itu, minyak atsiri kemungkinan juga dapat larut dalam air karena minyak atsiri juga dapat larut dalam pelarut polar.

5. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana. Sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Dengan pemanasan diperoleh keuntungan antara lain:

- 1) Kekentalan pelarut berkurang, yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas.
- 2) Daya melarutkan cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan.
- 3) Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan, sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.

Sebelum membuat infusa atau maserasi, tanaman yang akan kita gunakan terlebih dahulu dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan yang dapat dijadikan sebagai larvasida.

1. Pemeriksaan Flavonoid

Sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 1 ml kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

2. Pemeriksaan Tanin

Sampel dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes feri klorida (FeCl_3) 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru tua.

3. Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer dan 5 tetes kloroform. Endapan putih yang muncul menunjukkan sampel mengandung alkaloid.

4. Pemeriksaan Saponin

Sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas kemudian didinginkan. Kocok larutan selama 10 detik. Hasil positif akan ditunjukkan dengan terbentuk buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit.

C. ALAT DAN BAHAN

Alat dan Bahan Pembuatan Infusa adalah sebagai berikut:

1. Alat yang digunakan yaitu

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| a. gelas ukur | n. sendok plastik |
| b. pipet ukur | o. kertas lakmus |
| c. pipet tetes | p. panci infuse |
| d. kertas label | q. kain flannel |
| e. pengaduk kaca | r. <i>waterbath</i> |
| f. gelas Erlenmeyer | s. cawan perselin |
| g. timbangan digital | t. wadah plastik |
| h. thermometer | u. tabung reaksi |
| i. saringan | v. pisau |
| j. spidol | w. oven |
| k. gunting | x. plastik transparan |
| l. <i>bulb</i> | y. spuit |
| m. gelas beker | z. dan kain kasa. |

2. Bahan :
 - a. Sampel tanaman
 - b. Aquadest

D. CARA KERJA

1. Pembuatan ekstrak dengan cara infusa adalah sebagai berikut (Baheramsyah, 2009):
 - a) Sampel yang akan dibuat infusa dibersihkan dengan air mengalir sebanyak tiga kali, ditiriskan pada nampan yang telah dialasi dengan kertas,
 - b) kemudian dirajang sekitar 1 cm.
 - c) Lalu sampel ditimbang sebanyak 100 gram
 - d) Selanjutnya hasil tersebut dimasukkan kedalam panci infus atau beaker glass kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 ml.

Pembuatan infusa dengan panci infusa menggunakan dua buah panci yang saling bertumpuk, dimana panci yang di atas diisi bahan yang akan diekstraksi, yaitu rajangan bahan dan zat penyarinya, yaitu air. Panci yang di bawah hanya diisi air, yang berkontak langsung dengan api. Hal ini bertujuan agar ketika panci yang dibawah airnya mendidih hingga 100°C, maka panas yang diterima oleh panci atas hanya bersuhu 90°C saja. Kondisi demikian ini diperlukan agar zat aktif dalam bahan tidak rusak oleh panas berlebihan.
 - e) Kemudian dipanaskan selama 15 menit, sambil sesekali diaduk.
 - f) Infusa yang telah jadi kemudian disaring menggunakan kain flanel. Apabila diperlukan pendinginan maka sebelum disaring didinginkan terlebih dahulu karena biasanya tanaman mengandung minyak atsiri yang mudah menguap apabila disaring dalam keadaan panas. Infusa ini menghasilkan zat aktif yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang, sehingga tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.
2. Pembuatan ekstrak dengan cara maserasi sebagai berikut:
 - a) Sampel dibersihkan dengan air mengalir sebanyak tiga kali
 - b) Kemudian ditiriskan dan ditimbang sebanyak 300 gram lalu masukan ke dalam wadah
 - c) Dilarutkan dengan etanol 95% sebanyak 300 ml.

- d) Setiap enam jam sekali–kali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam.
- e) Kemudian Maserat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring
- f) Kemudian semua maserat dikumpulkan, lalu diuapkan menggunakan vakum evaporator hingga diperoleh ekstrak etanol sampel kental

E. HASIL PENGUJIAN

1. Penyajian hasil skrining fitokimia infusa biji buah pinang

No	Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan

Note: Hasil ditulis dengan + / -, keterangan ditulis hasil perubahan warna

2. Hasil pengujian fitokimia dan pembuatan Infusa/Maserasi difoto dan ditempel

PERTEMUAN IV UJI BIOPOTENCY LARVASIDA BOTANI

A. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Mahasiswa mampu melakukan pengujian senyawa botani sebagai larvasida.
2. Mengetahui dosis dan respon larvasida botani terhadap daya tahan *Aedes spp.*
3. Mengukur konsentrasi larvasida untuk membunuh 50% dan 90% larva uji.

B. LANDASAN TEORI

Insektisida botani adalah bahan alam yang mempunyai senyawa bioaktif alkaloid, fenolik dan zat kimia lain yang dapat dimanfaatkan sebagai insektisida sintetik. Bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai insektisida dapat berupa batang, daun, biji, bunga dan bagian tanaman lainnya yang dapat dimanfaatkan secara langsung maupun dalam bentuk ekstraksi. Bahan aktif dari tanaman seperti alkaloids, steroids, terpenoids, essential oils dan phenolics dari berbagai tanaman mempunyai aktivitas insecticida (Ghosh, Chowdhury and Chandra, 2012)

Insektisida nabati dapat dimanfaatkan sebagai larvasida *Aedes aegypti*. Berbagai tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri dengan nilai $LC_{50} < 750$ ppm diantaranya serai dapur, zodia, melati, nilam, tembakau, lengkuas, serai wangi, kayu jati, pohon tanjung, kayu putih, daun sirih, jeruk manis, sirsak, legundi, karika, buah pare dan ceremai (Astriani and Widawati, 2017).

Ekstraksi biokimia aktif dari tanaman sangat tergantung dari pelarut bahan yang digunakan. Heksana / petroleum eter dapat mengekstraksi minyak atsiri. Protein, glycans dll dapat diekstraksi oleh air. Kloroform atau etil asetat dapat mengekstraksi steroid, alkaloid dll (Ghosh, Chowdhury and Chandra, 2012).

Senyawa *toxic* dari tumbuhan umumnya digunakan untuk melindungi diri dari herbivora. Serangga yang memakan metabolit sekunder ini akan berefek pada berbagai molekul target namun tidak spesifik. Beberapa gangguan fisiologis pada tubuh serangga seperti penghambatan asetilcolinesterase dikarenakan minyak atsiri. *Thymol* mengganggu *GABA-gated chloride channel*. *Pyrethrin* mengganggu pertukaran ion natrium dan kalium dan Rotenon mengganggu sistem pernafasan. gangguan pada saluran kalsium dikarenakan *ryanodine*, aksi membran sel syaraf

karena *sabadilla*, *octopamine receptors* oleh *thymol*, gangguan keseimbangan hormonal, *mitotic poisoning* karena *azadirachtin*, gangguan molecular perubahan morfologi dan perubahan *behaviour and memory of cholinergic system* dikarenakan *essential oil*, dan lain sebagainya. Gangguan pada enzim penghambatan aktivitas asetilkolinesterase (AChE) merupakan gangguan paling penting karena enzim tersebut merupakan enzim utama yang bertanggung jawab untuk menghentikan transmisi impuls saraf melalui jalur sinaptik; AChE tahan terhadap organofosfor dan karbamat, dan telah diketahui bahwa perubahan AChE adalah salah satu mekanisme resistensi utama pada serangga (Ghosh, Chowdhury and Chandra, 2012).

C. ALAT DAN BAHAN

1. Pipet volum
2. Labu ukur
3. Cup plastik bersih
4. Pipet larva
5. Erlemeyer
6. Bahan alam yang di buat infusa atau ekstrak.

D. CARA KERJA

1. Persiapan larutan stok

Bahan ekstrak dari tanaman atau infusa tanaman dibuat deret konsentrasi konsentrasi yang akan digunakan dalam pengujian menyesuaikan hasil penelitian sebelumnya. Untuk ekstrak bahan tumbuhan dapat dibuat larutan stok dengan konsentrasi terbesar dari konsentrasi yang akan di ujikan.

Infusa konsentrasi 60% dibuat dengan cara menimbang serbuk bahan alam sebanyak 600 gram dimasukkan kedalam panci, kemudian ditambahkan air sebanyak 1.000 ml. Infusa dipanaskan selama 15 menit, dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Penyarian dilakukan selagi panas dengan kain flannel. Infusa konsentrasi 18%, 30%, dan 45% diperoleh melalui pengenceran dari infusa 60%. dan selanjutnya dapat di encerkan dengan aquades dengan rumus perhitungan: $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ (Hasanah, 2010)

Keterangan:

V1 = volume larutan mula-mula (ml)

M1 = konsentrasi mula-mula (%)

V2 = volume larutan sesudah diencerkan (ml)

M2 = konsentrasi sesudah diencerkan (%)

Contoh: Konsentrasi 18% infusa dibuat dari 30 ml infusa bahan alam 60% kemudian ditambah aquades hingga 100 ml.

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$60\% \times V1 = 18\% \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 30 \text{ ml}$$

2. Pengujian larvasida botani

Pengujian larvasida dilakukan dengan memaparkan larva pada deret konsentrasi dan kontrol negatif untuk mengetahui rentang aktifitas bahan yang di uji. Deret konsentrasi dapat dibuat 4-5 konsentrasi antara 10 – 95%. Buatlah empat atau lebih konsentrasi yang sama dalam satu pengukuran begitu juga dengan kontrol. Pemantauan dilakukan selama 24 jam atau 48 jam. Dan di hitung LC 50 dan LC 90. Pengulangan dilakukan tiga kali di hari yang berbeda. Suhu diatur pada 25 - 28°C.

Kematian larva dilihat dalam 24 jam atau 48 jam pada insektisida yang aksinya lambat. Kematian larva ditandai dengan tidak Bergeraknya larva saat di sentuh dengan ose jarum pada bagian siphon. Larva yang hampir mati jika larva tidak mampu naik kepermukaan dan jika tidak menunjukan reaksi menyelam yang khas ketika air bergerak. Hasil kematian dicatat.

Dalam pengujian jika didapatkan larva yang berubah menjadi pupa dan melebihi 10% maka uji tidak terpakai dan harus di ulang. Jika kontrol terdapat kematian larva 5 – 20% dari kelompok perlakuan maka harus dikoreksi sesuai dengan rumus Abbott:

$$\text{Kematian \%} = \frac{X-Y}{X} 100$$

X = persentase larva yang hidup pada kontrol

Y= persentase yang hidup pada sampel

Hasil pengujian di tulis dalam tabel seperti di Hasil.

Analisis dilakukan dengan analisis probit.

E. HASIL PENGUJIAN

Experiment No: _____ Investigator: _____ Location: _____ Treatment date: _____
Material: _____ Formulation: _____ Temp: _____ Lighting: _____
Species: _____ Larval instar: _____ Larvae/cup or vessel: _____
Water: Tap/Distilled Volume of water: _____ ml Food: _____ Date stock solution made: _____

		No of dead larvae at various conc. (mg/L) post exposure (hr.)													
		24 hr							48 hr						
Date	Replicate	0.00						0.00							
	1														
	2														
	3														
	4														
	5														
	6														
	7														
	8														
	9														
	10														
	11														
	12														
	Total														
	Ave.														
	% mortality														
LC50 (CL 95%): _____								LC50 (CL 95%): _____							
LC90 (CL 95%): _____								LC90 (CL 95%): _____							
LC99: _____								LC99: _____							
Slope: _____ Heterogeneity: _____								Slope: _____ Heterogeneity: _____							