

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Chrysomya* sp.

2.1.1 Taksonomi

Chrysomya mempunyai taksonomi seperti berikut :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Arthropoda</i>
Subphylum	: <i>Hexapoda</i>
Class	: <i>Insecta</i>
Order	: <i>Diptera</i>
Suborder	: <i>Brachycera</i>
Family	: <i>Calliphoridae</i>
Genus	: <i>Chrysomya</i>
Spesies	: <i>Chrysomya</i> sp. (Linnaeus, 2004)

2.1.2 Morfologi

a. Lalat dewasa

Lalat *Chrysomya* sp. memiliki ciri-ciri umum yaitu tubuhnya terdiri dari 3 bagian yaitu kepala, *thorax*, dan *abdomen* yang nampak terbagi dengan jelas. (Baskoro A, 2005)

b. Kepala

Memiliki kepala yang berbentuk oval dan memiliki sepasang antenna. Antena terdiri dari tiga segmen, segmen pertama dan kedua sukar dilihat, segmen ketiga besar. Arista pada antenanya berbulu pada kedua sisi. Muka (antara ke dua mata) berwarna kuning. Mulutnya termasuk jenis "sponging type" dengan probiscus yang lunak dan retractile. (Baskoro A, 2005)

c. Thoraks

Jumlah bristle pada thoraks sedikit, squamae berbulu. Terdapat garisan sutera berterusan pada bagian tengah dorsal dada bersamaan dengan posterior calli (Baskoro A, 2005)

d. Abdomen

Dengan rata-rata ukuran yaitu 8–10 mm (0.3–0.4 inch). Tubuhnya berwarna biru, hijau atau ungu metalik. Serangga ini mempunyai sepasang sayap (Baskoro A, 2005)



Gambar 2.1 *Chrysomya* sp. (Santi, 2001)

e. Telur

Telurnya panjang 2mm dan diletakkan secara bergerombol atau berkelompok. Satu betina dapat meletakkan hampir 2.000 telur selama hidupnya. Telur menetas setelah antara 12 jam dan 2 hari, tergantung pada suhu (Baskoro A, 2005).



Gambar 2.2 Telur Chrysomyia sp. (Santi, 2001)

f. Larva

Larva lalat panjangnya antara 10-14mm dan memiliki thorn-like spines (Merial,2007). Bentuk larvanya seperti kerucut, posterior spiracle pada larva mempunyai peritreme yang incomplete berbentuk pear(Baskoro A, 2005).



Gambar 2.3 Larva Chrysomyia sp. (Santi, 2001)

g. Pupa

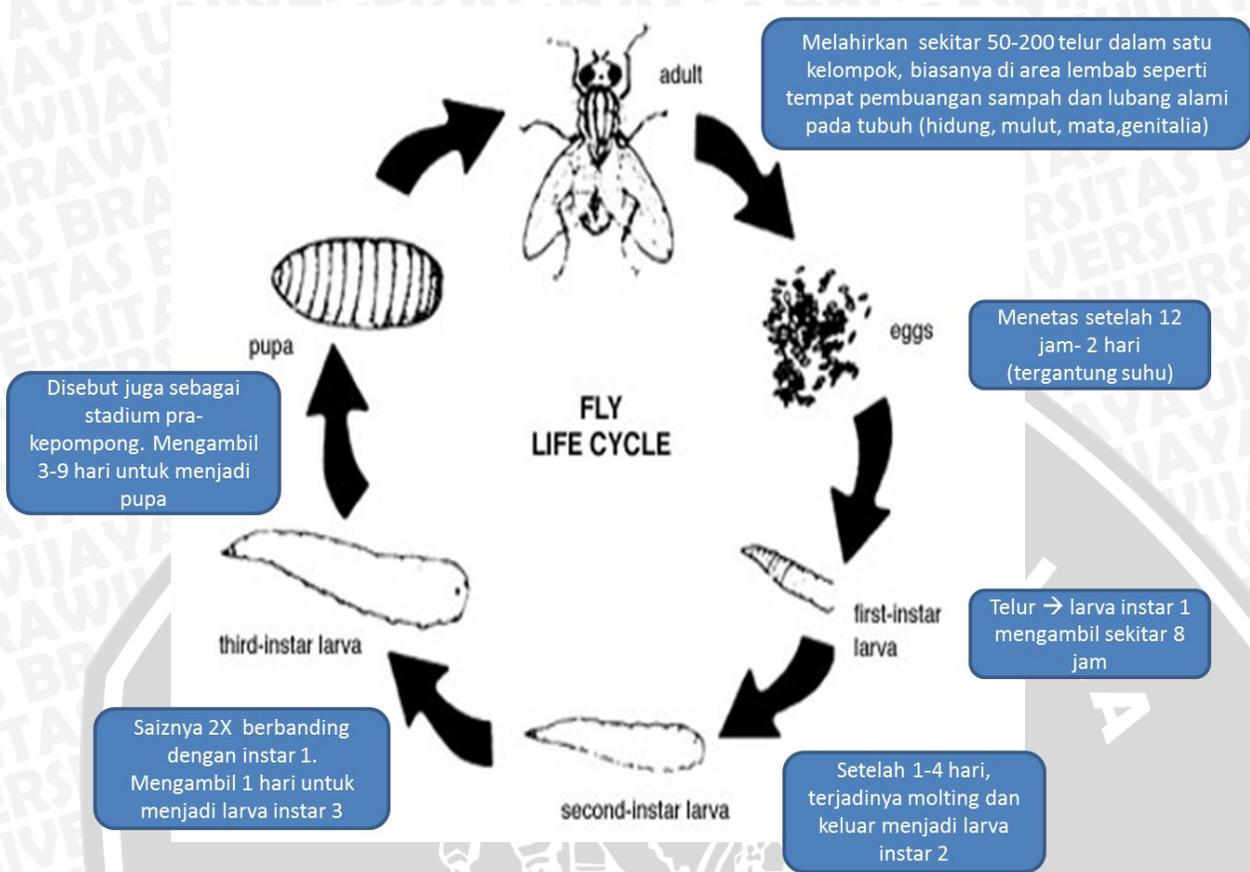
Setelah stadium ketiga, pupa akan bergerak ke sekitar mencari situs untuk menjadi kepompong. Larva instar ketiga disebut 'pra-kepompong' dan kulit mereka mulai untuk menggemukkan dan mengeras, akhirnya menjadi kepompong, atau puparium (Baskoro A, 2005)

2.1.3 Siklus Hidup

Telurnya panjang hampir 2mm berwarna kuning berbentuk seperti pisang, menetas dalam waktu 8-12 jam dan terdapat 50-200 telur dalam satu kelompok. Lalat ini lebih suka meletakkan telurnya di sampah atau bahkan cadaver dan juga pada area yang lembab seperti kelopak mata, kantung mata, lubang hidung, mulut, bibir, genital dan anus. (Depkes,2001)

Dari telur ke larva stadium pertama memakan waktu sekitar 8 jam. Larva memiliki tiga stadium pertumbuhan (yang disebut instars); setiap stadium didahului oleh molting (Depkes,2001).

- Tingkat I :Telur yang baru menetas disebut instar I, berukuran panjang 2mm, berwarna putih, tidak bermata dan berkaki, sangat aktif dan ganas terhadap makanan. Setelah 1-4 hari, terjadi molting dan keluar menjadi instar II
- Tingkat II :Ukuran besarnya 2 kali dari instar I, setelah 1 sampai beberapa hari maka kulitnya akan terlepas (molting) dan keluar instar III
- Tingkat III :Larva berukuran 12mm atau lebih. Tingkat ini memerlukan sekitar 3-9 hari.



Gambar 2.4 Tipe siklus hidup : holo-metabolous metamorphosis (Santi, 2001)

2.1.4 Habitat dan Tempat Perindukan

Lalat *Chrysomia* dewasa sangat aktif sepanjang hari terutama pada pagi hingga sore hari. Tempat yang disenangi adalah tempat yang basah seperti sampah basah, kotoran binatang, tumbuh-tumbuhan busuk, serta kotoran yang menumpuk secara kumulatif, contohnya di kandang. Tempat perindukan lalat rumah yang paling utama adalah pada kotoran hewan yang lembab dan masih baru (normalnya lebih kurang satu minggu). Disamping itu, serangga ini suka hinggap dan dapat berkembang baik di sampah, sisa makanan, buah-buahan yang ada di dalam rumah maupun di pasar, pada kotoran organik seperti kotoran hewan dan kotoran manusia. Tempat-tempat ini merupakan tempat yang cocok untuk berkembang biaknya lalat. Lalat ini juga dapat berkembang biak pada permukaan air kotor yang terbuka (Depkes, 2001).



Gambar 2.5 Tempat perindukan lalat (contoh: tempat pembuangan sampah) (Depkes, 2001)

2.1.5 Sifat-sifat

Dikenali dengan panggilan *Old World screw-worm fly*. Terdiri dari ribuan species termasuk yang domestik, dikenal dengan sebutan “*blue bottle*”, “*green bottle*” dan “*flesh flies*”. Tidak seekor lalat pun yang termasuk Family Calliphoridae penghisap darah, bagian mulutnya bertipe seperti Musca (Buku Ajar Parasitologi, 2009). Lalat ini tidak terbang pada malam hari, dan telurnya diletakkan hanya pada siang hari. Serangga ini juga tidak suka terbang pada cuaca yang dingin kecuali jika matahari bersinar cerah dan hari tidak turun salju. Jika suhu, 12°C serangga ini tidak akan meletakkan telurnya, selain itu hujan juga mencegah lalat ini untuk bertelur (Grisye, 2007). Lalat dewasa mulai meletakkan telur 4-5 hari setelah menetas dari pupa. Telur tidak akan menetas jika suhu <4°C tapi akan menetas 6-7°C dalam waktu 8-14 jam (Encyclopedia Britannica, 2006).

2.1.6 Kepentingan Medis

Lalat disebut agen penyebar penyakit yang sangat serius karena setiap lalat hinggap di suatu tempat, kurang lebih 125.000 kuman yang ada pada lalat jatuh ke tempat yang dihinggap. Sebagian besar penyakit yang ditularkan oleh lalat, berhubungan dengan saluran pencernaan misalnya diare, disentri, demam tifus, demam paratifoid dan juga penyakit kulit yaitu myiasis (Hidayat, 2005).

Tifus adalah suatu penyakit infeksi bakterial akut yang disebabkan oleh kuman *Salmonella typhi*. Di Indonesia penderita tifus atau disebut juga demam tifus cukup banyak, tersebar di mana-mana, ditemukan hampir sepanjang tahun, dan paling sering diderita oleh anak berumur

5 sampai 9 tahun. Kurangnya pemeliharaan kebersihan merupakan penyebab penyakit tifus. Makanan yang kurang bersih dapat menyebabkan timbulnya penyakit ini. Penyakit tifus merupakan penyakit yang sangat menular. Penyakit ini menular melalui air dan makanan. Penularan penyakit tifus terutama dilakukan oleh lalat dan kecoa (Duke,2007).

Demam tifoid yang berat memberikan komplikasi perdarahan, kebocoran usus (perforasi), infeksi selaput usus (peritonitis), renjatan, bronkopneumoni dan kelainan di otak (ensefalopati, meningitis). Penyakit ini dapat menyebabkan terjadinya kekurangan darah dari ringan sampai sedang karena efek kuman yang menekan sumsum tulang. Leukosit dapat menurun hingga kurang dari 3.000/mm³ dan ini ditemukan pada fase demam (Duke,2007).

Lalat dapat menimbulkan external myiasis atau dermal myiasis. Myiasis adalah invasi jaringan hidup oleh larva lalat yang termasuk order Diptera di jaringan kulit mukosa dan conjunctiva. Pembagian myiasis bagi *Chrysomia sp.* adalah traumatik myiasis (bisa menyebabkan fatal), myiasis mulut, hidung dan sinus berdekatan (lalat masuk hidung waktu penderita tidur ditempat terbuka, lalu hidung dan muka membengkak, nyeri kepala, panas dan sekresi hidung berupa nanah bercampur lendir, dapat sampai merusak septum nasi, palatum mole, palatum durum, pharynx, os hyoid, dan lain-lain sehingga berakibat fatal), ocular myiasis dan myiasis daerah anus (lalat tertarik pada sekret yang berbau, larvanya mengadakan invasi ke daerah anus dan vagina dan dikeluarkan bersama faeces dan urine) (Buku Ajar Parasitologi,2009).

Internal myiasis biasanya menyerang *intestinal tract* atau *genito-urinary tract*. Dalam hal *genito-urinary* myiasis, infestasi larva lalat mulai dari lubang ekskreta, biasanya terdapat luka atau pus pada lubang tersebut. Dalam hal intestinal myiasis, manusia mendapat infeksi secara accidental menelan telur atau larva lalat yang terdapat pada makanan, atau dapat juga melalui anus naik ke atas (Baskoro dkk., 2005).



(Santi, 2001)

Gambar 2.6 contoh penderita myiasis

2.2 Pengendalian Serangga

Dalam upaya pengendalian penyakit menular, tidak terlepas dari usaha peningkatan kesehatan lingkungan, dan salah satu kegiatannya adalah pengendalian vektor penyakit. Melalui tindakan ini, dapat mengurangi atau melenyapkan gangguan yang ditimbulkan oleh binatang pembawa penyakit, seperti lalat *Chrysomia* (Dinata,2006).

2.2.1 Metode Nonkimiawi

Metode ini dikenal sebagai metode yang ramah lingkungan, dan bilamana analisisnya benar, akan lebih mengenai sasaran dan mempunyai berbagai dampak positif, misalnya populasi serangga menurun serta peningkatan mutu lingkungan. Beberapa langkahnya yaitu dengan cara : (Dinata,2006)

Pemulihan lingkungan berupa meningkatkan mutu sanitasi, yaitu dengan cara meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap kebutuhan akan lingkungan yang bersih.

2.2.2 Metode Kimiawi

Metode bahan kimiawi, yaitu dengan cara menghilangkan tempat perindukan, seperti penggunaan insektisida pada tempat perindukan yang berupa serbuk tabur untuk tempat perindukan lalat. Penggunaan insektisida lebih menguntungkan karena dapat mencakup

daerah-daerah yang luas dan dapat dilakukan serentak di beberapa tempat. Metode ini terdiri dari 2 jenis, yaitu dari bahan alami dan non alami (Dinata,2006)

(i) Bahan non alami, misalnya insektisida yang dikeluarkan oleh pabrik, misalnya Propoxur dan Transfluthrin.

(ii) Bahan alami, misalnya ekstrak dari tanaman; ekstrak dari daun rosemary.

Menurut masuknya insektisida ke dalam tubuh serangga, insektisida dibedakan menjadi tiga kelompok sebagai berikut ; (Darman,2005)

a. Racun perut

Racun perut adalah insektisida membunuh serangga sasaran dengan cara masuk ke sistem pencernaan melalui makanan yang mereka makan. Insektisida akan masuk ke organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding usus kemudian ditranslokasi ke tempat sasaran yang sesuai dengan jenis bahan aktif insektisida. Misalkan, insektisida ini menuju ke pusat saraf serangga, menuju ke organ-organ respirasi, meracuni sel-sel lambung dan sebagainya. Insektisida racun perut mengambil masa agak lama untuk menyebabkan kematian karena harus melalui sistem pencernaan lalat. (Darman,2005)

b. Racun kontak

Racun kontak adalah insektisida yang tercepat membunuh lalat dengan meresap ke dalam tubuh serangga melalui pori-pori yang terdapat pada kulit, celah atau lubang alami pada tubuh (trakea) atau langsung mengenai mulut serangga. Serangga akan mati apabila bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tersebut. Kebanyakan racun kontak juga berperan sebagai racun perut. (Darman,2005)

c. Racun pernafasan

Racun pernafasan adalah insektisida yang masuk melalui trakea serangga dalam bentuk partikel mikro yang melayang di udara. Serangga akan mati apabila menghirup partikel mikro

insektisida dalam jumlah yang cukup banyak. Kebanyakan racun pernafasan berupa gas, asap, maupun uap dari insektisida cair. (Darman,2005)

2.2.2.1 Insektisida

Insektisida adalah bahan yang mengandung persenyawaan kimia yang digunakan untuk membunuh serangga. Insektisida yang baik mempunyai sifat sebagai berikut: (Isaac et al., 2007)

- mempunyai daya bunuh yang besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi binatang vertebrata termasuk manusia dan ternak
- murah harganya dan mudah didapat dalam jumlah yang besar
- mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar
- mudah dipergunakan dan dapat dicampur dengan berbagai macam bahan pelarut
- tidak berwarna dan tidak berbau tidak menyenangkan (Isaac et al., 2007)

2.2.2.2 Faktor – Faktor Yang Perlu Diperhatikan dalam Memilih Insektisida

Untuk memilih insektisida, pertama yang harus diingat adalah jenis jasad pengganggu yang akan dikendalikan, stadium serangga, lingkungan hidup, dan cara hidup (C. A. Wilen, 2006).

2.3 Rosmarinus officinalis

2.3.1 Taksonomi



Gambar 2.7 Daun Rosemary (BBC, 2012)

Kingdom	:	Plantar
Sub-kingdom	:	Tracheobionta
Superdivisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliopytha
Kelas	:	Magnoliopsida
Sub-kelas	:	Asteridae
Ordo	:	Lamiales
Family	:	Lamiaceae
Genus	:	Rosmarinus L.
Spesies	:	Rosmarinus officinalis L.

(United States Department of Agriculture, 2012)

2.3.2 Deskripsi

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) merupakan sejenis tumbuhan renek yang kecil dengan daunnya yang berbentuk jarum seperti daun *pokok pine*. Rosemary mempunyai bunga yang berwarna ungu kebiruan dan di negara empat musim ia akan berbunga sepanjang musim bunga dan musim panas. Rosemary dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian seratus dua puluh sentimeter. Pembiakannya mudah melalui keratin batang. Untuk hidup di negara kita yang beriklim panas, rosemary tidak boleh dibiarkan secara terus di bawah cahaya matahari. Rosemary harus ditanam ditempat yang agak teduh dengan air yang mencukupi. Daun rosemary ini mempunyai aroma yang kuat. Nama tumbuhan ini menarik sebenarnya didapat dari perkataan lain yang berarti embun dari laut. Di negara barat rosemary merupakan symbol persahabatan dan kasih sayang. Ia sering dijadikan hadiah kepada pasangan yang baru menikah (Melur ,dkk.,2007).



Gambar 2.8 Tumbuhan Rosemary (BBC, 2012)



Gambar 2.9 Daun Rosemary dengan bunga (BBC, 2012)

2.3.3 Penggunaan Rosemary

Pemanfaatan tanaman rosemary dalam kehidupan sehari-hari sudah sangat banyak. Tanaman ini dulunya ditanam untuk minyak aromatiknya yang diperoleh dengan cara distilasi uap. Minyak ini tidak berwarna atau berwarna kuning pucat dan memiliki karakteristik bau tanaman. (Al-Sereitia, 1999).

Beberapa contoh pengaplikasian tanaman ini dalam kehidupan saat ini, adalah dalam bidang kosmetik, terapi dan farmasi, bahan makanan dan perasa, industri dan lain lain: (Al-Sereitia, 1999)

1. Kosmetik

Tanaman ini bekerja pada folikel rambut dengan menstimulasi pertumbuhan rambut dan mencegah timbulnya ketombe. Selain itu juga digunakan untuk mencegah jerawat dan dermatitis. (Al-Sereitia, 1999)

2. Terapi dan farmasi

Minyak rosemary terbukti mempunyai efek pada otak dengan menjernihkan pikiran dan membantu daya ingat. Minyak rosemary ini merupakan stimulan eksternal dan merilekskan ketegangan, spasme otot, sakit kepala, migrain, neuralgia, dan kelelahan mental. Efek antiseptik dari minyak rosemary sangat cocok untuk infeksi intestinal dan diare; selain itu juga meringankan colitis, dyspepsia, flatulence, gangguan hepar, dan jaundice. (Al-Sereitia, 1999)

Pada sistem respirasi, minyak rosemary efektif untuk asma, bronchitis, dan whooping cough. Minyak ini dapat meringankan kongesti dan bengkak, dan juga dapat memperbaiki kondisi jerawat, dermatitis, dan eczema. Fungsi diuretik dari minyak rosemary sangat berguna terhadap retensi air saat menstruasi, dan juga pada obesitas dan selulitis. Karena sifatnya sebagai asringent, minyak rosemary berguna untuk kulit kendur, aksi stimulasinya dapat berguna terhadap gangguan kulit kepala dan membantu pertumbuhan rambut. Rosemary telah digunakan sebagai obat-obatan tradisional untuk reumatik dan pengobatan luka. Tanaman ini juga digunakan sebagai pengobatan kanker dan obat untuk penyakit ginjal. (Al-Sereitia, 1999)

3. Bahan makanan dan perasa

Rosemary digunakan dalam produk makanan dan minuman non-alkoholik. Daun rosemary, yang segar dan yang dikeringkan, yang ditumbuk maupun yang utuh, digunakan sebagai bumbu sup, semur, sosis, daging, ikan, dan hasil ternak. Hidrolat tanaman ini dikemas dalam botol dan dijual sebagai minuman penyegar. (Al-Sereitia, 1999)

4. Industri

Rosemary digunakan sebagai bahan dasar dalam sabun, krim, lilin, deodoran, tonik rambut, dan shampoo. Tanaman ini juga digunakan pada berbagai macam pembersih alat rumah tangga dan penyegar ruangan. Beberapa pestisida organik mengandung rosemary sebagai bahan mayornya. Efek antioksidan dan antibakterial rosemary digunakan untuk menjaga kualitas lemak dan daging. (Al-Sereitia, 1999)

5. Lain-lain

Selain hal tersebut di atas, rosemary digunakan sebagai tanaman penghias kebun.

Tanaman ini dapat menjadi sumber nektar lebah dan juga sebagai insect repellent.

(Department of Agriculture, Forestry & Fisheries Republic of South Africa, 2009)

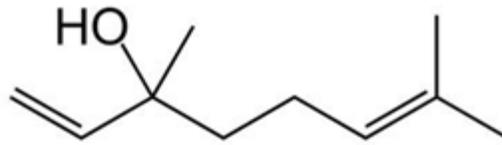
2.3.4 Kandungan

Essential oils atau volatiles dalam tanaman rosemary antara lain ialah camphor, cineole, α -pinene, linalool dan borneole. Komponen ini banyak digunakan dalam pengobatan tradisional, sebagai parfum, dan juga memiliki aktivitas antimicrobial serta penolak serangga. (Al Sheyab, et al., 2012). Rosemary merupakan salah satu tanaman yang termasuk kedalam tanaman aromatik, karena mempunyai aroma yang khas. Minyak atsirinya yang sering disebut quita essenta (Phil, M.E.B., 2006) mengandung linalool (17.1%), borneol (3.1%) dan camphor (4.1%) (Al-Sereitia, 1999) dan menurut Simon et al. (1984) kandungan yang terdapat dalam minyak atsirinya yang sering digunakan sebagai penolak serangga antara lain linalool, limeon, borneon, camphor, dan caryophyllene. (Al Sheyab, et al., 2012)

2.3.4.1 Linalool

Linalool merupakan senyawa alcohol yang tidak jenuh dan menguap sehingga bisa memberi sensasi bau yang menyenangkan dan efek anti serangga terhadap lalat Chrysomia adalah kuat. Ini menyebabkan lalat Chrysomia tidak senang mendekati daun rosemary. (Al-Sereitia, 1999)

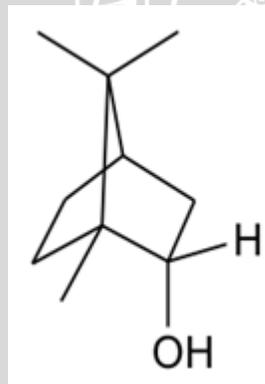
Lebih dari 200 spesies tumbuh-tumbuhan mengandung linalool. Linalool ini hendaklah dihindarkan dari orang yang alergi pada wangi-wangian. Ini karena jika linalool ini tidak dihindarkan bisa memperberat efek alergi orang tersebut. (Al-Sereitia, 1999).



Gambar 2.9.1 Struktur Kimia Linalool (Frachem, 2014)

2.3.4.2 Borneol

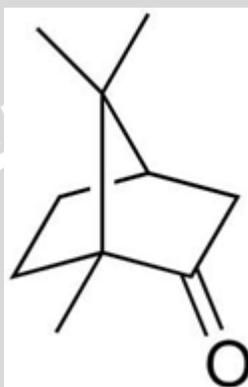
Borneol merupakan atom yang mempunyai dua cincin di dalam molekulnya dan memiliki sifat menguap(gas). Gugus hidroksil dalam komposisi ditempati oleh posisi endo. Isoborneol merupakan exo isomer. Isoborneol ini sangat mudah untuk dioksidasi kepada keton dan menghasilkan camphor. Borneol ini juga dikenal sebagai Borneo camphor. Borneol ini akan dihasilkan dari proses reduksi camphor. Karena sifat yang ada pada borneol ini, yang akan mempengaruhi system penciuman lalat chrysomia sehingga memberi bau yang tidak disukai dan menyebabkan chrysomia menghindar dari daun rosemary (Al-Sereitia, 1999).



Gambar 2.9.2 Struktur Kimia Borneol (Fragrantica, 2014)

2.3.4.3 Camphor

Camphor mempunyai dua cincin atom dalam molekulnya dan merupakan sejenis keton jenuh yang menguap. Camphor ini ada dalam bentuk dekstro dan levo. Ia memiliki karakteristik bau yang khas. Sifat bau yang khas pada camphor inilah yang nantinya akan mempengaruhi system pernafasan dan system saraf pada lalat Chrysomia sehingga lalat itu akan menghindari dari tumbuhan yang mengandungi camphor (Al-Sereitia, 1999).

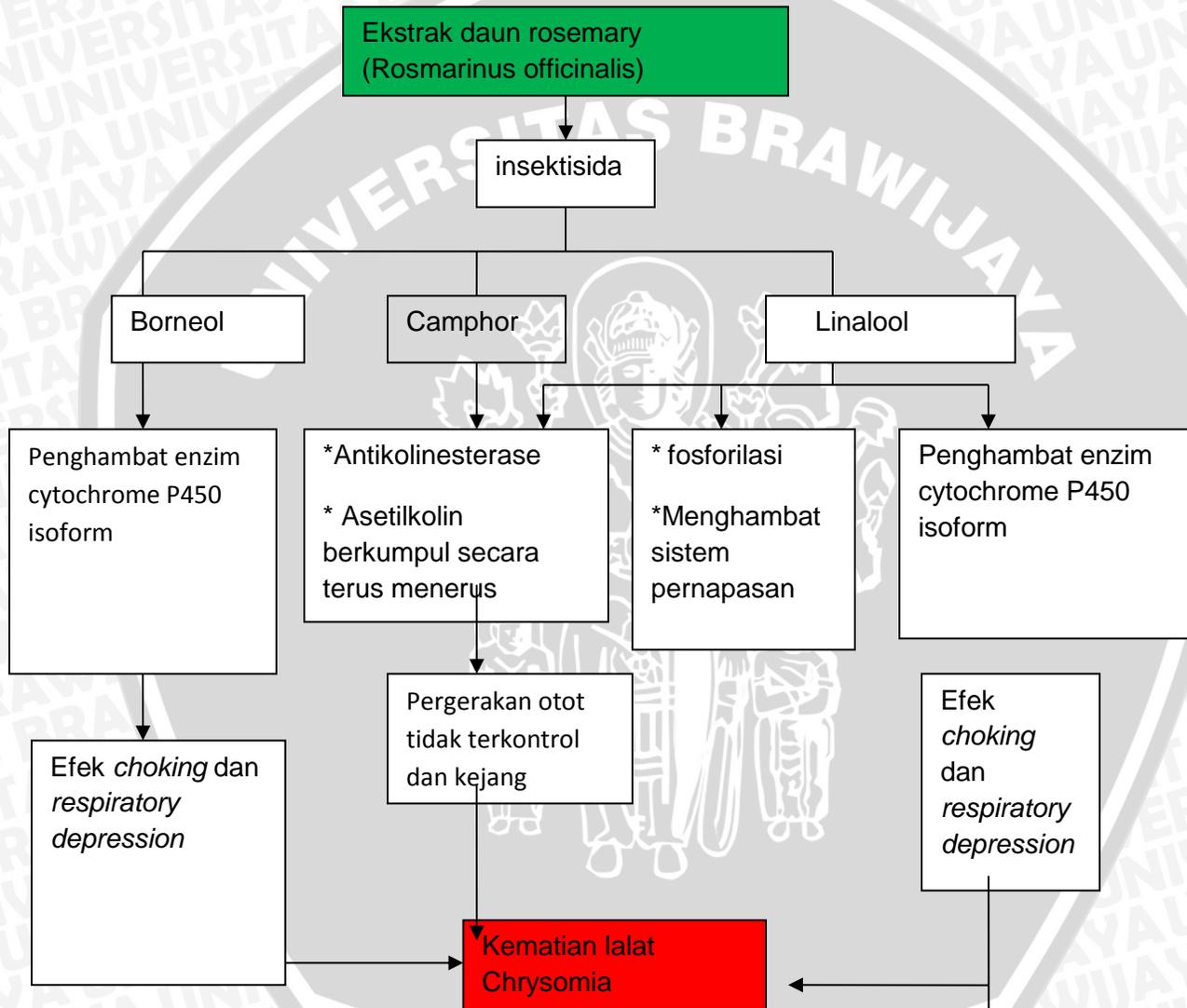


Gambar 2.9.3 Struktur Kimia Camphor (Chemeddl, 2014)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan:



: Variable dependent



: Variable independent



: Proses inhibisi / Hambatan

3.2 Uraian Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak daun rosemary mengandung linalool, borneol, dan camphor. Senyawa-senyawa ini bertindak sebagai insektida dengan mempengaruhi system saraf pusat(SSP) pada lalat Chrysomia. Senyawa linalool akan mempengaruhi system saraf pusat lalat Chrysomia dengan menghambat enzim asetilcholinesterase yang mempengaruhi transmisi impuls saraf. Hal ini menyebabkan enzim ini mengalami fosforilasi oksidatif dan menjadi tidak aktif. Tidak aktifnya enzim ini menyebabkan hambatan proses degradasi acetylcholine sehingga terjadi akumulasi acetylcholine di celah sinap menyebabkan pergerakan otot yang tidak terkontrol dan kejang . Kerja senyawa Linaalol di sini adalah untuk menghambat enzim cytochrome P450 isoform yang akan menyebabkan resistensi terhadap insektisida hilang dan lalat Chrysomia mati.Hambatan dari enzim ini juga menyebabkan efek *choking* dan *respiratory depression*. Ini menyebabkan terganggunya sistem saraf dan sistem pernafasan lalat Chrysomia. Gagalnya sistem saraf dan sistem pernafasan akan menyebabkan lalat Chrysomia mati(Jacquin-Jolly,E;Merlin,C, 2004) .

Enzim borneol berperan dalam resistensi insektisida. Kerja senyawa borneol di sini adalah untuk menghambat enzim cytochrome P450 isoform yang akan menyebabkan resistensi

terhadap insektisida hilang dan lalat *Chrysomia* mati. Hambatan dari enzim ini juga menyebabkan efek *choking* dan *respiratory depression* (Al-Sereitia, 1999).

Senyawa camphor akan mempengaruhi system saraf pusat lalat *Chrysomia* dengan menghambat enzim asetilcholinesterase yang mempengaruhi transmisi impuls saraf. Hal ini menyebabkan enzim ini mengalami fosforilasi dan menjadi tidak aktif. Tidak aktifnya enzim ini menyebabkan hambatan proses degradasi acetylcholine sehingga terjadi akumulasi acetylcholine di celah sinap menyebabkan pergerakan otot yang tidak terkontrol dan kejang (Al-Sereitia, 1999).

3.3 Hipotesis penelitian

1. Ekstrak etanol daun rosemary (*Rosmarinus officinalis*) mempunyai potensi sebagai insektisida terhadap lalat *Chrysomia* dengan metode semprot
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Rosemary maka semakin besar potensi insektisidanya jumlah kematian lalat *Chrysomyia* sp.
3. Semakin lama waktu pengamatan maka potensi insektisidanya semakin besar jumlah kematian lalat *Chrysomyia* sp.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan true experimental-post test only control group design yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) sebagai insektisida terhadap lalat *Chrysomia*.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Ekstrak daun rosemary untuk penelitian ini telah dilakukan di Lab Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Populasi dan Besar Sampel

4.3.1 Jumlah Populasi

Pada penelitian ini menggunakan lalat *Chrysomia* yang memenuhi kriteria inklusi.

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah:
 - Lalat *Chrysomia* yang hidup
 - Lalat *Chrysomia* yang aktif bergerak
- Kriteria eksklusi penelitian ini adalah:
 - Lalat yang cacat

4.3.2 Perlakuan

Sebelumnya dilakukan penelitian eksplorasi untuk memilih konsentrasi dosis yang minimal dan tepat untuk membunuh lalat *Chrysomia* menggunakan ekstrak daun rosemary.

Dari eksplorasi konsentrasi ekstrak ini, yang terpilih dalam penelitian ini adalah konsentrasi 1%, 3% dan 5%.

Adapun perlakuan yang digunakan adalah dengan membagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari :

1. Kontrol positif :
 - Larutan Malathion 0.28 % (WHO 2006).
2. Kontrol negatif :
 - Aseton 1% (WHO , 2006).
3. Perlakuan I:
 - Larutan ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*) 1 %.
4. Perlakuan II:
 - Larutan ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*) 3 %.
5. Perlakuan III:
 - Larutan ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*) 5 %.

4.3.3 Pengulangan

Estimasi besar pengulangan yang dilakukan berdasarkan perhitungan rumus (Lukito, 1998)

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4 \text{ (Lukito, 1998)}$$

keterangan:

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Diputuskan, berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini minimal adalah 4 kali.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Dependent (terikat)

Variabel dependent (variabel terikat) penelitian ini adalah jumlah lalat *Chrysomia* dewasa yang mati pada waktu penelitian.

4.4.2 Variabel Independent (bebas)

Variabel independent (variabel bebas) adalah konsentrasi ekstrak daun Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) (dalam %)

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat-alat Penelitian

Alat Pembuatan Ekstrak daun Rosemary (*Rosmarinus officinalis*)

1. Blender
2. Tabung untuk merendam serbuk daun rosemary yang sudah diblender.
3. Saringan
4. Kertas saring

5. Gelas ekstraksi (botol)
6. Neraca analitik
7. Klem statis
8. Oven
9. Timbangan
10. Seperangkat alat evaporasi vakum
 - * Rotary evaporator
 - * Pompa vakum
 - * Tabung pendingin dan alat pompa sirkulasi air dingin
 - * Bak penampung air dingin
 - * Labu penampung hasil evaporasi
 - * Labu penampung etanol
 - * Batu didih

Alat Untuk Uji Insektisida Chrysomia

- * Kandang berukuran 25 cm x 25 cm x 25cm
- * Spray / alat penyemprot
- * Pinset
- * Masker
- * Glove

4.5.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam 2 kelompok yaitu bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*) dan bahan uji kemampuan zat insektisida.

- Bahan Pembuatan Ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)
 1. Daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)

2. Aceton 1%
 3. Etanol 96%
- Bahan uji kemampuan zat insektisida.
 1. Ekstrak daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)
 2. Aceton 1%
 3. Lalat Chysomia
 4. Larutan malathion

4.6 Definisi Operasional

- Kontrol positif adalah bahan pembanding yang telah terbukti memiliki potensi insektisida. Kontrol positif standar menurut WHO adalah larutan Malathion 0.28 %.
- Kontrol negatif adalah bahan pelarut ekstrak daun rosemary yang tidak memberikan pengaruh pada hasil penelitian. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif acetone 1% karena acetone merupakan pelarut dalam pembuatan ekstrak daun rosemary.
- Potensi insektisida adalah kemampuan ekstrak daun rosemary dalam mematikan lalat *Chrysomya*.

4.7 Persiapan Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)

Proses ekstraksi daun rosemary(*Rosmarinus officinalis*) dilakukan dengan cara maserasi.

*Daun rosemary(*Rosmarinus officinalis*) diiris kemudian dijemur sampai kering, setelah itu daun rosemary yang kering dihaluskan dengan blender sehingga akan diperoleh bentuk serbuk.

*500 gram serbuk daun rosemary dimasukkan ke dalam botol lalu direndam dengan etanol.

*Pelarut etanol sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam botol sehingga serbuk yang terbungkus kertas saring terendam dalam pelarut etanol. Larutan dibiarkan sampai rendaman berwarna coklat tua (\pm dua hari).

*Hasil rendaman etanol kemudian ditampung di botol lain.

*Ekstraksi dilakukan dengan beberapa kali penggantian etanol.

*Ekstraksi dihentikan jika etanol dengan tempat menampung serbuk daun rosemary sudah jernih (setelah satu minggu).

*Semua hasil rendaman ditempatkan di dalam satu botol.

4.7.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Daun Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)

Alat evaporasi dirangkai sehingga membentuk sudut 30-40°, dari bawah ke atas yaitu alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, rotary evaporator, dan tabung pendingin. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik. Selain itu, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan labu penampung hasil penguapan.

- Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali, rotary evaporator, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum semua dinyalakan. Pemanas aquades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut etanol mulai menguap.
- Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum.
- Proses ini ditunggu hingga hasil ekstraksi yang dievaporasi volumenya berkurang dan menjadi kental, ditandai dengan batu-batu pengaduk yang ikut berputar, maka proses dapat dihentikan dan hasil evaporasi diambil.
- Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian dioven pada suhu 50-60°C selama 1-2 menit, untuk menguapkan pelarut yang tersisa, sehingga didapat ekstrak daun rosemary(*Rosmarinus officinalis*).
- Ekstrak daun rosemary(*Rosmarinus officinalis*) yang berupa pasta kemudian ditimbang dengan neraca analitik.
- Hasil ekstraksi ini dianggap sebagai ekstrak ethanol 100%

4.7.3 Cara Pembuatan Larutan Stok

Cairan pelarut ekstrak daun rosemary yang digunakan adalah larutan aseton. Larutan stok ekstrak daun rosemary dibuat untuk mempermudah proses penyiapan larutan uji. (Derrida, 2006)

4.7.4 Penyiapan larutan uji

Larutan stok daun rosemary diencerkan dengan aseton 1% hingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak daun rosemary

M2 : Konsentrasi larutan ekstrak daun rosemary yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan yang diperlukan

Volume akhir larutan perlakuan yang diperlukan untuk setiap konsentrasi adalah 4 ml. Jadi setelah diambil dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan aseton 1% sampai mencapai volume 4 ml (WHO, 2006).

4.7.5 Penyiapan sampel

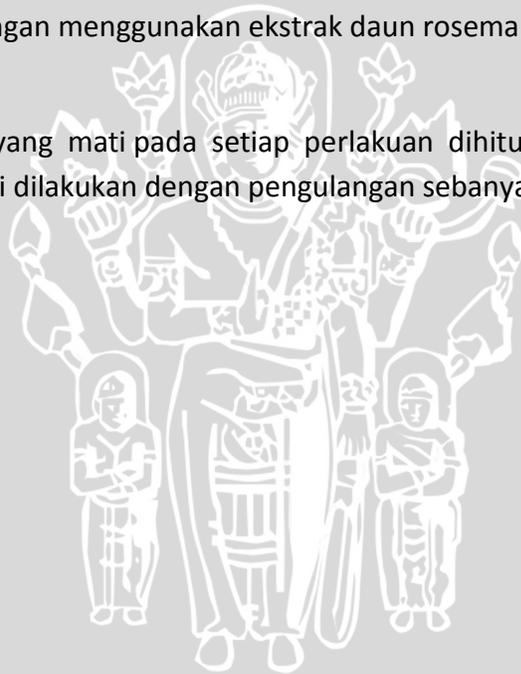
Lalat *Chrysomia* dewasa dimasukkan ke dalam kandang. Masing-masing kelompok coba memiliki 10 lalat *Chrysomia* dewasa. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sprayer yang telah diberi label dan dilanjutkan dengan menyemprot larutan uji tersebut ke dalam kandang yang tersedia. Kelompok kontrol negatif, yaitu penyemprotan aseton sejumlah 4 ml pada kandang lalat *Chrysomia* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari acetone 1%. Sedangkan kelompok kontrol positif, yaitu penyemprotan Malathion 0,28% sejumlah 4 ml pada kandang lalat *Chrysomia* dewasa coba dengan tujuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul dari Malathion 0,28%.

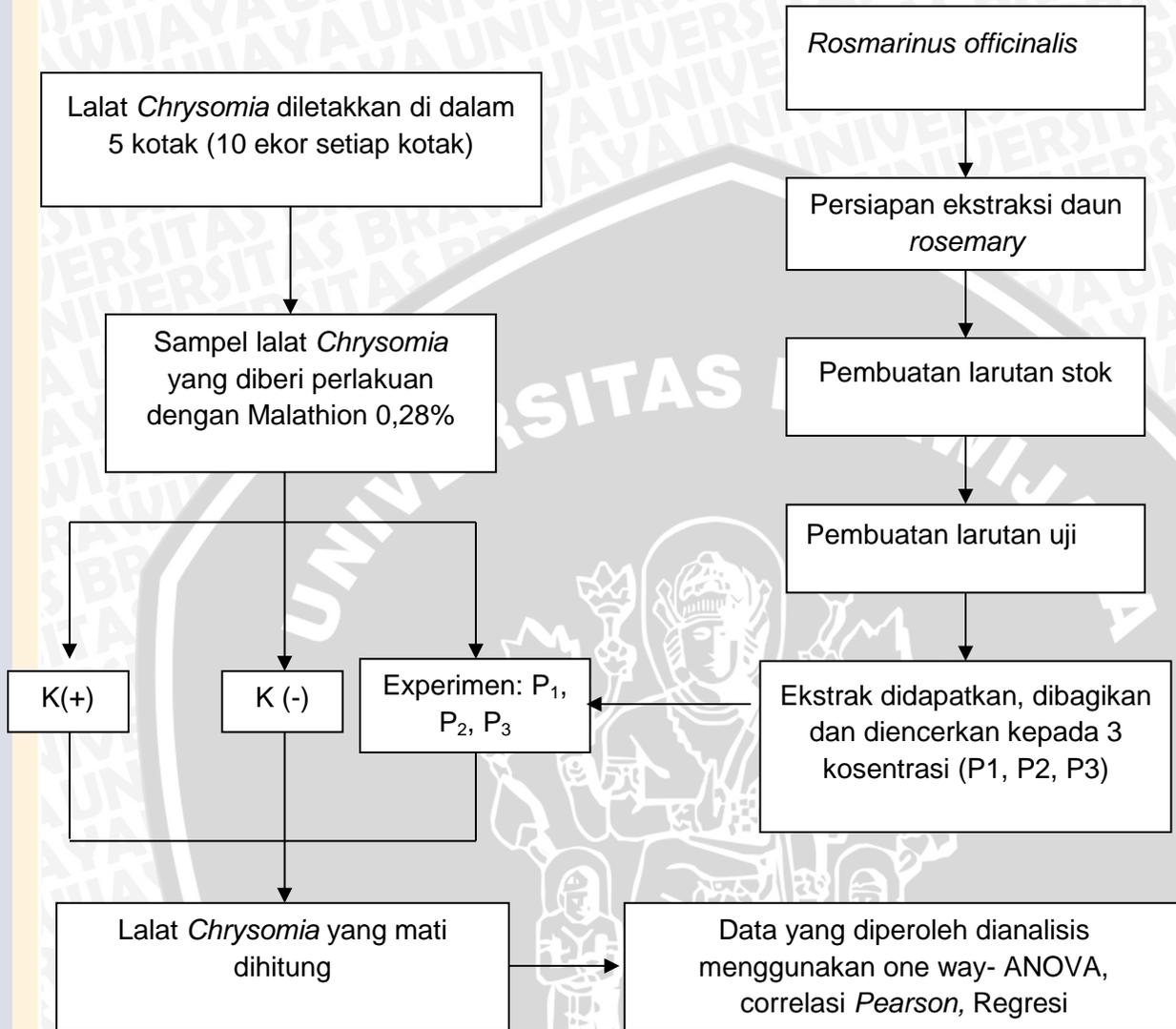
4.7.6 Alur Kerja Penelitian Racun Kontak Menurut WHO

Percobaan dilakukan dengan menggunakan 5 buah kotak kaca berbentuk bujur sangkar berukuran 25x25x25 cm³ diletakkan dalam ruang dalam suhu kamar.

- a) 10 ekor lalat *Chrysomia* dewasa dimasukkan ke dalam kandang pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol.
- b) Ekstrak daun rosemary dengan konsentrasi tertentu dipersiapkan.

- c) Pada saat akan digunakan, diambil secukupnya (untuk masing-masing konsentrasi, kontrol positif, kontrol negatif) untuk dimasukkan ke dalam masing-masing sprayer.
- d) Isi sprayer disemprotkan ke dalam masing – masing kandang sampai habis.
- e) Kandang 1 disemprot dengan menggunakan larutan aceton 1% sejumlah 4 ml (sebagai kontrol negatif).
- f) Kandang 2 disemprot dengan menggunakan Malathion 0,28% sebanyak 4 ml (sebagai kontrol positif).
- g) Kandang 3 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun rosemary 1 % sebanyak 4 ml.
- h) Kandang 4 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun rosemary 3 % sebanyak 4 ml.
- i) Kandang 5 disemprot dengan menggunakan ekstrak daun rosemary 5 % sebanyak 4 ml.
- j) Jumlah lalat *Chrysomya* yang mati pada setiap perlakuan dihitung setiap jam 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan jam 24. Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan





Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan

Gambar 4.1 Diagram Alur kerja Penelitian

Keterangan:

- K1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml Malathion 0,28% (kontrol positif)
- P1 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 1 %
- P2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 3 %
- P3 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml larutan dengan konsentrasi 5 %
- K2 : Perlakuan dengan penyemprotan 4 ml aceton 1% (kontrol negatif)

4.8 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari pengamatan dimasukkan dalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah persentase kematian lalat *Chrysomia* dewasa setelah 24 jam, pengulangan dan konsentrasi.

4.9 Metode Pengukuran Potensi Insektisida

Persentase potensi insektisida ekstrak daun rosemary dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus:

$$A1 = (A - B / 100 - B) \times 100 \%$$

Keterangan:

- A1 : Persentase kematian *Chrysomia* setelah koreksi
A : Persentase kematian lalat *Chrysomia* uji
B : Persentase kematian lalat *Chrysomia* kontrol negatif

4.10 Analisis Data Penelitian

Statistik yang digunakan untuk mencari perbedaan antara kelompok dengan lebih dari 2 kelompok adalah One way ANOVA, dengan syarat sebagai berikut :

1. Memeriksa syarat anova untuk lebih dari dua kelompok tidak berpasangan

- a. Sebaran data harus normal (wajib) - dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan kolmogorov smirnov test.
- b. Varian data harus sama (wajib) - data yang diperoleh dari setiap perlakuan dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji homogeneity of variance (levene test) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama.

- c. Observasi adalah independent yaitu nilai suatu observasi tidak berkait dengan nilai yang lain
- d. Varians setiap kelompok adalah sama dengan kelompok lain

Data-data hasil yang telah dikelompokkan dan dimasukkan tabel, diuji kemaknaannya dengan menggunakan One-way ANOVA. Anova ini untuk menganalisis apakah ada perbedaan persentase kematian lalat *Chrysomia* antara lebih dari dua kelompok. Apabila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan analisis dengan uji post hoc TUKEY untuk menguji kelompok mana saja yang memiliki perbedaan nyata. Kemudian dilanjutkan dengan analisis korelasi Pearson, dimana analisis untuk melihat kekuatan hubungan antara 2 variabel, yaitu konsentrasi larutan ekstrak daun rosemary dengan jumlah kematian lalat *Chrysomia* dewasa. Selain itu, turut dilakukan uji regresi linear. Untuk uji analisis One – way ANOVA, uji analisis post hoc (LSD test), uji korelasi Pearson menggunakan fasilitas SPSS 17 untuk Windows.