**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK DAUN SIRSAK**

**SEBAGAI PESTISIDA HAYATI**

Harsoyo Purnomo dan Afri Utami

Jurusan Pendidikan Biologi

IKIP PGRI Semarang

**ACUTE TOXICITY TEST OF SOUR-SOP LEAF EXTRACT**

**AS BIOPESTICIDE**

**ABSTRACT**

Sour-sop (*Annona muricata* L) leaf extract is predicted that it can be used as biopes- ticide which is safe to environmental condition. But, toxicity acut test still important to do.

The objective of this research is to estimate of the is exposure dose causing 50% mortality (96-h LD50 95% CI) to test orgasnism during 96 h.

Toxicity tests with 50 Goldfish (*Carassius auratus*) were conducted in 20 liters test solution. Five mouthed jar contain 4 liters of test solution with different dose. At least 10 Goldfish weighing 3—5 g were tested at each dose (0 ppm, 12500 ppm, 13250 ppm, 14000 ppm, and 14750 ppm). Toxicity data were analyzed by statistical linear regression with IBM SPSS Statistics 19.

The result prediction with regression estimation was obtained logarithmic (log) va-lue scale interpolation LD50 is 4.142. Transforming (antilog) of this value was obta-ined 96-h LD50 95% CI = 13868 ppm.

Conclusion, Sirsak leaf extract can be used as biopesticide with safety limit 1387 ppm.

Key words: toxicity, sour-sop leaf extract, LD50, *Carassius auratus*, biopesticide.

**ABSTRAK**

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) diprediksi dapat digunakan sebagai pes-tisida hayati yang tidak berbahaya bagi kondisi lingkungan. Namun, uji toksisitas akut ekstrak daun sirsak tersebut, masih perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengestimasi dosis ekstrak daun sirsak yang me-nyebabkan 50% mortalitas (96-h LD50 95% CI) terhadap hewan uji selama periode waku 96 jam.

Uji toksisitas dengan 50 ekor lkan mas (*Carassius auratus*) telah dilakukan dalam 20 liter larutan uji. Lima bejana mulut lebar volume 4 liter diisi dengan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Sekurang-kurangnya 10 Ikan mas dengan berat 3—5 g diuji pada setiap dosis larutan uji (0 ppm; 12500 ppm; 13250 ppm; 14000 ppm; dan 14750 ppm). Data toksisitas dianalisis dengan statisik regresi linear se-derhana menggunakan IBM SPSS Statistcs 19.

Hasil prediksi dengan menggunakan persamaan regresi estimasi diperoleh inter-polasi log LD50 yaitu 4,142. Dengan transformasi (antilog), maka diperoleh 96-h LD50 95% CI sebesar 13868 ppm.

Kesimpulannya ialah, ekstrak daun sirsak dapat digunakan sebagai pestisida hayati dengan batas aman 1387 ppm.

Kata-kata kunci: toksisitas, ekstrak daun sirsak, LD50, *Carassius auratus*, pestisida hayati

**PENDAHULUAN**

Penggunaan pestisida sintetis dalam pengenalian hama oleh petani, dewasa ini sudah di anggap lazim. Mereka tidak memikirkan atau tidak memperhitungkan dampak ne-gatif yang ditimbulkan, baik terhadap organisme bukan sasaran, kesehatan manusia, maupun lingkungan akuatik / terestrial. Oleh kaarena itu dipandang perlu untuk men-cari alternatif penggantinya.

 Tanaman sirsak (*Annona muricata* L) cukup potensial untuk digunakan seba-gai bahan pestisida hayati. Daun sirsak mengandung senyawa acetogenin, antara lain asimisin, bulatasin, squamosin, saponin, flavonoid, dan tanin (Plantus 2008). Senya-wa-senyawa tersebut bersifat toksik, yang dapat mematikan serangga hama tertentu.

 Namun, untuk menentukan batas aman bagi organisme akuatik bukan sasaran perlu dilakukan pengujian dengan bioassay, untuk menguji toksisitas bahan kimia toksik (alkaloid) yang terdapat di dalam daun sirsak, atau untuk mengukur timgkat bahaya kontaminan bahan kimia yang terdapat di dalam ekstrak daun sirsak terha-dap organisme akuatik.

 Dalam uji toksisitas akut daun sirsak ini digunakan organisme (hewan) uji Ikan mas. Ikan mas (*Carassius auratus*) dan invertebrata akuatik lainnya telah digu-nakan pada tahun 1965—1978 untuk menguji toksisitas akut lebih dari 400 jenis ba-han kimia oleh US Fish and Wildlife Service, Colombia National Fisheries Research Laboratory (Johnson and Finley i980). Konsentrasi efektif lebih didasarkan pada immobilisasi daripada letalitas

Penelitian ini bertujuan untuk mengestimasi dosis ekstrak daun sirsak yang menyebabkan 50% mortalitas (96-h LD50 95% CI) terhadap hewan uji selama perio-de waku 96 jam.

**MATERIAL DAN METODE**

1. **Subjek Penelitian**

Subjek penelitian adalah 100 ekor Ikan mas (*Carassius auratus*) yang diperoleh dari penjual Ikan mas di daerah Siliwangi, Semarang. Berat badan ikan tidak lebih dari 5 g/ekor, ukuran panjang badan ikan terkecil dibanding ikan terbesar tidak melampaui 1 : 1.5.

1. **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah: daun sirsak (*Annona muricata* L) segar, sabun

sabun deterjen, dan air sumur.

1. **Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam peneleitian antara lain bak penampung untuk akli-masi hewan uji dengan volume 20 lt, bejana dengan volume 5 1t sebanyak 20 buah, blender, gelas ukur 10 ml, becker glass 50 ml, timbangan, DO test kit merk Hanna, termometer dan pH stick.

1. **Prosedur**
2. **Pembuatan Pestisida Hayati**

Pestisida hayati yang berupa ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) segar, dibuat dari 20 gram daun sirsak yang diblender halus kemudian dilarutkan dalam satu liter air, dicampur dengan tiga gram sabun deterjen, lalu diendapkan selama satu malam. Larutan yang diperoleh diperlakukan sebagai pestisida hayaati murni. Selanjutnya larutan murni diencerkan dengan air sesuai dosis yang diinginkan, yaitu: 0 ppm. 12500 ppm, 13250 ppm, 14000 ppm, dan 14750 ppm

1. **Aklimasi Hewan Uji**

Hewan-hewan uji (Ikan mas) yang akan digunakan dalam pengujian terlebih dahulu dibiarkan dalam kondisi laboratorik selama 10 hari, dan 2 hari menjelang pengujian, hewan-hewan tersebut tidak diberi makan.

1. **Uji Ekplorasi**

Uji eksplorasi dilakukan dengan cara sebagai berikut: 50 ekor hewan uji dibagi men-jadi lima kelompok, masing-masing 10 ekor ditempatkan dalam satu bejana uji de-ngan volume air 4 1t. Ke dalam tiap bejana dari lima kelompok hewan uji tersebut dimasukkan ekstrak daun sirsak dengan dosis 0 ppm ( sebagai kontrol) ; 12500 ppm; 13250 ppm; 14000 ppm; dan 14750 ppm.

 Observasi dilakukan dengan mencatat pola gerak subletal, dan jumlah hewan uji yang mati. Observasi ini dilakukan setelah 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam. Konsentrasi atau dosis dimana mortalitas 50% (LD50) selama 48 jam terjadi, dite-tapkan sebagai dosis uji sebenarnya, dengan interval dosis lebih pendek.

1. **Uji Sesunggsuhnya**

Lima puluh hewan uji dibagi menjadi lima kelompok masing–masing 10 ekor, ditem patkan dalam satu bejana uji dengan volume 4 1t. Ke dalam tiap bejana dari lima kelompok hewan uji tersebut dimasukkan ekstrak daun sirsak berdasarkan hasil uji eksplorasi dengan dosis; 13750 ppm; 14000 ppm; 14250 ppm; dan 14500 ppm,

dan 14750 ppm.

Observasi dilakukan setiap 24 jam sekali, dengan mencatat pola gerak suble-

thal, dan jumlah yang mati. Penentuan LD50 dilakukan selama 96 jam dengan cara inerpolasi atau mengestimasi berdasar regresi estimasi.

1. **Transformasi probit/ log dan regresi linier**

Dalam toksikologi, prediksi dengan persamaan regresi estimasi untuk masalah dosis respons umumnya kurang valid. Metode interpolasi yang valid didasarkan pada nilai skala probabilitas (probit) dan logaritmik (log). Persentase respons (kematian hewan uji) dinyatakan dalam skala probit, dan dosis dinyatakan dalam skala log .

Jika dosis racun skalanya diubah dalam logaritma, ketahanan banyak orga-nisme terhadap racun ini mendekati distribusi normal. Peningkatan dosis mengaki-batkan distribusi normal kumulatif, sehingga sering disebut kurva dosis kematian. Kurva ini merupakan hal yang pokok dalam seluruh bioassay.

1. **Analisis dan Interpretasi Data**

Analisis data dilakukan dengan regresi linear sederhana, untuk memprediksi 96-h LD50 95% CI. dengan menggunakan IBM SPSS Statistics 19 yang secara manual dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut.

Persamaan umum:

Y = a + bx

di mana: Y = nilai estimasi yang disesuaikan dengan yi pada xi digunakan persa-maan:

b = $\frac{n\sum\_{}^{}xy-(\sum\_{}^{}x)(\sum\_{}^{}y)}{n(\sum\_{}^{}x^{2})-\left(\sum\_{}^{}x\right)^{2}}$ atau b = $\frac{\sum\_{}^{}xy-n\overbar{x}\overbar{y}}{\sum\_{}^{}x^{2 }-n\overbar{x}^{2}}$ 

di mana:

a = intersep, b = kemiringan garis; n = jumlah perlakuan

 Uji signifikansi antara dua atau lebih serangkaian data (kemiringan kurva mortalitas) dilakukan dengan uji F, melalui analisis varians regresi sebagai berikut.

Tabel 1. Analisis Varians Regresi Linear

|  |
| --- |
| Variasi Jumlah Kuadrat Derajat Bebas Kuadrat Tengah (1) (2) (3) (4) |
| Regresi $b^{2}(Σx^{2} $− n$\overbar{x}^{2})$ 1 (2) : (3)Residu dengan selisih n – 2 (2) : (3)Total $\sum\_{}^{}y^{2}-n\overbar{y}^{2}$ n – 1 |

1. **Menguji koefisien regresi (Uji t)**

Menguji koefisien regresi dilakukan dengan menentukan nilai t hitung dengan persamaan

; 

Se = kesalahan standar estimasi (standard error of estimate). Besarnya Se menun- jukkan ketepatan persamaan estimasi terhadap nilai variabel dependen yang sesung-guhnya. Semakin kecil nilai Se, semakin tinggi ketepatan persamaan estimasinya, dan sebaliknya.

 atau 

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengujian toksisitas akut ekstrak daun sirsak sebagai pestisida hayati dengan menggunakan ikan mas sebagai hewan uji pada uji eksplorasi, diketahui bahwa LD50 selama 48 jam adalah 14750 ppm, yang selanjutnya ditetapkan sebagai patokan dosis untuk uji sesungguhnya.

Dari hasil analisis regresi estimasi diperoleh persamaan regresi yang dapat di- gunakan untuk memprediksi 96-h LD50 95% CI. Hasil selengkapnya adalah sebagai berikut.

1. **Uji Eksplorasi**

Tabel 2. Data Mortalitas Ikan mas dengan Dosis yang Berbeda Selama 48 jam

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Dosis (ppm) | Mortalitas Ikan mas jam ke | Mortalitas (%) |
| 12 | 24 | 36 | 48 |
| 0 | - | - | - | - | 0 |
| 12500 | - | - | - | - | 0 |
| 13250 | - | - | - | - | 0 |
| 14000 | - | 2 | - | - | 20 |
| 14750 | 3 | 2 | 1 | - | 60 |

Pengamatan yang dilakukan selama 48 jam selain mencatat jumlah hewan uji yang mati juga mencatat pola gerak subletal. Pengamatan terhadap tingkah laku Ikan mas selama percobaan memperlihatkan “kepanikan” ketika terkontaminasi oleh ekstrak daun sirsak, di mana pada jam ke-6 hewan uji tampak mulai lemas. Diawali dengan Ikan mas mulai bergerak cepat tidak teratur saat diber larutan ekstrak daun sirsak, la-lu lebih memilih tempat bergerak di bawah permukaan air. Lama kelamaan, ikan berenang miring, insang ikan banyak mengeluarkan lendir, lemas dan akhirnya mati.

1. **Uji Sesungsuhnya**

Pada awal penelitian dilakukan pengujian kualitas air untuk mengetahui apakah kon-disi air sudah sesuai standar untuk penelitian dan air dalam kondisi tidak tercemar. Paramater yang diuji adalah temperature,pH,dan DO. Hasil pengujian adalah: tem-peratur = 260C, pH = 7,1, dan DO = 7,0.

Berdasarkan uji eksplorasi, ditetapkan kisaran dosis untuk uji sesungguhnya yaitu ; 13750 ppm; 14000 ppm; 14250 ppm ; 14500 ppm, dan 14750 ppm. Adapun hasil pengujiannya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Data Mortalitas Ikan mas dengan Dosis yang Berbeda Selama 96 jam

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Dosis (ppm) | Mortalitas Ikan mas jam ke | Mortalitas (%) |
| 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | 84 | 96 |
| 13750 | 1 | 1 | - | - | 1 | 1 | 1 | - | 50 |
| 14000 | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 3 | 50 |
| 14250 | 2 | 4 | - | - | - | - | - | - | 60 |
| 14500 | 2 | 2 | - | 1 | 1 | 1 | - | - | 70 |
| 14750 | 4 | 3 | - | 1 | - | - | - | - | 80 |

Dari Tabel 5 di atas terlihat bahwa mortalitas 50% terletak pada dosis 13750 ppm, dan 14000 ppm. Sementara dosis ekstrak daun sirsak 14750 hanya mematikan hewan uji sebesar 80%. Secara tepat LD50 dapat diestimasi dengan menggunakan persama-an regresi linear sederhana berdasarkan data tertera di atas.

Kematian hewan uji disebabkan oleh kontaminasi racun dari ekstrak daun sirsak yang masuk ke dalam tubuh hewan uji. Beberapa senyawa tersebut adalah fla-vonoid, tannin, saponin dan acetogenin. Senyawa racun yang terkandung dalam eks-trak daun sirsak tersebut bekerja sebagai insektisida kontak dan insektisida sistemik pada ikan. Insang ikan banyak mengeluarkan lendir sebagai respon penyaringan masuknya racun ke dalam tubuh. Lendir yang terlalu banyak dapat menghambat ma-suknya oksigen ke dalam tubuh, yang akhirnya dapat menyebabkan kematian. Racun yang masuk ke dalam tubuh hewan uji akan terakumulasi di dalam ginjal. Karena ke-terbatasan ginjal untuk menganulir bahan pencemar dapat menyebabkan kematian hewan uji.

Faktor lingkungan yang cukup berpengaruh terhadap mortalitas hewan uji adalah perubahan suhu, pH, dan DO akibat pemberian ekstrak daun sirsak.

1. **Analisis Output Regresi Linear**

Data yang didapat pada uji sesungguhnya (Tabel 5), di interpolasi. log LD50 dies-timasi dengan memasukkan nilai 5 (probit 50 %). Transformasi probit / log seleng-kapnya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Transformasi Probit / log Dosis-Respons Ekstrak Daun Sirsak

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Mortal. (%)(xi) | Probit(xi’) | Dosis (ppm)(yi) | log yi(yi’) | (xi’)2 | xi’.yi’ |
| 5050607080 | 5,0005,0005,2555,5255,845 | 1375014000142501450014750 | 4,1384,1464,1544,1614,169 | 25,00025,00027,61530,52634,164 | 20,69020,73021,78722,99024,368 |
| Jumlah | 26,625 |  | 20,768 |  142,305  | 110,565 |
| Mean | 5,325 |  | 4,154 |  |  |

Dengan menggunakan probit sebagai variabel independen (x), dan logit sebagai va-riabel dependen (y) dapat dilakukan perhitungan analisis regresi linear sederhana.

Dari tabel koefisien-koefisien hasil analisis diperoleh persamaan regresi estimasi:

Y = 3,982 + 0,032 X

Sb 0,028

t 6,094

sig. t 0,009

Dari persamaan regresi estimasi di atas dapat diuraikan sebagai berikut.

Konstanta ( a = 3, 982 ) merupakan rata–rata pengaruh (mean of average effect) dari berbagai variabel yang memperngaruhi Y, tetapi tidak dimasukkan ke dalam persa-maan regresi; disebut juga dengan istilah intersep yaitu titik potong garis regresi pa-da sumbu Y, apabila nilai X = 0

Koefisien regresi (b) menunjukkan besarnya kelipatan unit perubahan nilai Y apabila X berubaha sebanyak satu unit. Dari persamaan di atas diperoleh nilai b = 0,032. Artinya jika X ditambah satu unit , maka nilai Y akan naik sebesar 0, 032 unit (ppm).

t hitung dan probabilitas t (sig. t) menunjukkan signifikansi pengaruh variabel inde-penden (X) terhadap variabel dependen (Y) . Nilai t = 6,094 sangat signifikan (sig. t = 0,009).

Di samping itu, dari output analisis regresi linear sederhana juga diperoleh koefisien korelasi (R) = 0,962 menunjukkan tingkat keeratan hubungqn antara variabel inde-penden (X) dengan variabel dependen (Y) yang sangat kuat dan positif ini artinya

jika nilai X meningkat nilai Y juga meningkat.

Koefisien determinasi (R square atau R2) = 0,925, artinya pengaruh (sumbangan) Xi terhadap naik turunnya nilai Y sebesar 92,5 % sedangkan sisanya 7,5 % dipengaruhi variabel lain yang tidak dimasukkan ke dalam persamaan.

Standar eror estimasi 0,003845 lebih kecil dari pada standar deviasi mean dosis, yaitu 0,012178. Ini berarti bahwa model regresi estimasi yang diperoleh lebih baik dalam bertindak sebagai estimator atau prediktor dosis, daripada rata-rata dosis itu sendiri.

Dari uji F diperoleh Fhit = 37,131, dengan sig. F 0,009. Jadi H0 ditolak: artinya hipo-tesis yang menyatakan bahwa b = 0 atau X tidak berpengaruh terhadap Y adalah ti-dak benar.

1. **Diagnosis terhadap Penyimpangan dari Asumsi Model Klasik**

Tujuan utama analisis regresi linear adalah untuk mengestimasi / memprediksi suatu parameter, terutama mengenai variasi perubahan nilai variabel dependen (Y), apabila nilai variabel inde-penden (X) ditentukan.

Oleh karena itu, estimator / prediktor yang diperoleh dari metode kuadrat terkecil biasa atau OLS (ordinary least square) harus berupa estimator linear tidak bias terbaik atau BLUE (best linear unbiased estimator). Kondisi ini akan terjadi apabila asumsi model klasik dipenuhi, yaitu tidaak terjadi heteroskedastisitas dan autokore- lasi.

Heteroskedastisitas dapat dideteksi dengan uji korelasi rho Spearman, yaitu korelasi antara dengan Xi. atau dideteksi dengan diagram pencar (scatterplot) an-tara regression studentized residual, dengan regression standardized predicted value. Diagram pencar pada output analisis regresi ini tidak membentuk suatu pola atau trend garis tertentu. Ini berarti bahwa model regresi estimasi yang diperoleh bebas atau tidak terjadi heteroskedastisitas.

Dari uji Durbin-Watson diperoleh nilai d = 1,634. Dari Tabel D, dengan level signifikan 0.01; k’ = 1; dan n = 6; diperoleh dL = 0,390; dU = 1,142; 4 – dU = 2,858; dan 4 – dL = 3,610. Catatan: dalam Tabel D, n = 5 tidak terdapat; tetapi tentunya lebih kecil dari dL dan dU untuk n = 6. Nilai d = 1,634 terletak di antara dU dan 4 − dU, atau dU < d < 4 − dU (tidak ada autokorelasi).

1. **Prediksi LD50 Ekstrak Daun Sirsak**

Berdasarkan diagnosis terhadap output regresi estimasi (regresi linear sederhana) dari penyimpangan terhadap asumsi model klasik, yaitu heteroskedastisitas, dan au-tokorelasi, persamaan regresi estimasi yang diperoleh dapat digunakan untuk mem-prediksi LD50 ekstrak daun sirsak bagi Ikan mas, dengan cara memasukkan nilai pro-

bit mortalitas 50%, yaitu 5,000 untuk menggantikan X ke dalam persamaan:

Y = 3,982 + 0,032 X Y = 3,982 + 0,032 (5) Y = 4,142

Hasil prediksi dengan persamaan regresi estimasi di atas diperoleh interpolasi log LD50 yaitu 4,142. Jika ditransformasi (antilog), maka diperoleh 96-h LD50 95% CI se

besar 13868 ppm dan batas amannya adalah 1387 ppm ( 10% X 13868).

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil uji eksplorasi dan uji sesungguhnya serta analisis output regresi estimasi dari uji toksisitas akut ekstrak daun sirsak dengan Ikan mas, dapat di ikhti- sarkan sebagai berikut.

1. Dari uji F diperoleh Fhit = 37,131, dengan sig. F 0,009
2. Nilai t hitung 6,094 dan probabilitas t (sig. t = 0,009) menunjukkan signifikansi pengaruh variabel independen (X = mortalitas) terhadap variabel dependen (Y = dosis).
3. Tidak terjadi penyimpangan dari asumsi model klasik, sehingga persamaaan re-gresi estimasi dapat digunakan untuk mengestimasi LD50 ekstrak daun sirsak, yaitu 13.868 ppm .

Dari ikhtisar tertera di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak dapat di-gunakan sebagai pestisida hayati dengan batas aman 1387 ppm.

**BIBLIOGRAFI**

Gad, S.C., and C.S. Weil. 1989. Statistics for toxicologist. In *Principles and methods of toxicology*, 2nd ed. Ed. A.W. Hayes, 435—83. New York: Raven Press, LTD.

Holgate, M.W. 1979. *A perspective of environmental pollution*. London: Cambridge University Press.

Johnson, W.W. , and M.T. Finley. 1980. *Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates.* Washington, D.C.: United States Department of the interior fish and wildlife service.

Kardiman, A. 2002. *Pestisida nabati ramuan dan aplikasinya.* Jakarta: Penebar Swa-daya.

Novizan. 2004. *Membuat dan memanfaatkan pestisida ramah lingkungan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

Plantus. 2008. *Atasi hama belalang secara organik*. http://anekaplanta.wordpress. com/ 2008/03/02/atasi-hama-belalang-secara-organik/trackback.

Purnomo, H. 2007. *Petunjuk praktikum pengetahuan lingkungan*. Semarang: IKIP PGRI Semarang.

------. 2011. *Statistika deskriptif dan inferensial*. Semarang: IKIP PGRI Semarang.

Snedecor, G.W., and W.G. Cohran. 1980. *Statistical methods*. Iowa: The Iowa University Press.

Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. 1986. *Introduction to biostatistics*. 2nd ed. New York: W.H. Freeman & Co.

Tarumingkeng, R.C. 1992. *Insektisida sifat mekanisme kerja dan dampak pengguna-annya.* UKRIDA Press.