

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif *Repellent* Nyamuk dari Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calammus*)

Melisa Muhridja, Nurhayati Bialangi, Weny J.A. Musa

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

Abstrak

Telah dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa aktif repellent pada rimpang jeringau (*Acorus calammus*. L). Penelitian diawali dengan mengekstrak 500 gram serbuk rimpang jeringau (*Acorus calammus*. L) dengan pelarut metanol menggunakan teknik maserasi. Ekstrak kental metanol difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan. Identifikasi senyawa yang terkandung pada rimpang jeringau dilakukan dengan uji fitokimia pada ekstrak kental dan masing-masing fraksi. Melalui kromatografi kolom, ekstrak kental fraksi *n*-heksan menghasilkan 49 fraksi kemudian diuji menggunakan KLT. Isolat murni yang positif pada uji flavonoid dianalisis keberadaan gugus fungsinya dengan spektrofotometer IR dan UV-Vis. Hasil analisis dengan Spektrofotometer IR menunjukkan gugus fungsi adanya ulur O-H, ulur C-H, ulur C=O, ulur C=C aromatik, tekuk O-H, tekuk C-H dan ulur C-O alkohol. Sedangkan untuk UV-Vis menunjukkan 2 pita dengan serapan gelombang maksimum pada 304,78 dan 253,76 nm. Senyawa yang diduga adalah senyawa flavonoid yang merupakan senyawa aktif repellent nyamuk.

Kata Kunci: *Acorus calammus* L, *Repellent* Nyamuk, Flavonoid, Isolasi, Karakterisasi, Spektrofotometri IR dan UV-Vis.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang mempunyai cukup sumber daya alam di antaranya sumber daya alam hayati. Kondisi alam Indonesia yang cukup subur disebabkan letak geografis yang dilewati oleh garis khatulistiwa, dan memiliki iklim tropis yang sangat cocok bagi tumbuh dan berkembangnya berbagai tanaman.

Sebagai salah-satu upaya memutus mata rantai penyebaran nyamuk tersebut adalah pengendalian vektor dengan menggunakan insektisida. Saat ini telah banyak insektisida yang digunakan oleh masyarakat, sayangnya insektisida tersebut membawa dampak negatif pada lingkungan karena mengandung senyawa-senyawa kimia yang berbahaya, baik terhadap manusia maupun sekelilingnya. Oleh karena itu perlu pengembangan

insektisida baru yang tidak menimbulkan bahaya dan lebih ramah lingkungan, hal ini diharapkan dapat diperoleh melalui penggunaan bioinsektisida. Bioinsektisida atau insektisida hayati adalah suatu insektisida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) yang toksik terhadap serangga namun mudah terurai (*biodegradable*) dalam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia (Moehammadi, 2005).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai repellent nyamuk yaitu tumbuhan jeringau (*A. calamus* L.). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah jeringau (*Acorus calamus* L.). Jeringau merupakan tanaman yang tumbuh liar di daerah rawa, sawah, ataupun ditanam sebagai tanaman hias pekarangan. Masyarakat secara

tradisional menggunakan rimpang jeringau untuk mengobati diare, disentri, cacingan atau digunakan pada wanita setelah bersalin bersama bahan obat lain dengan cara ditumbuk atau direbus (Atsiri Indonesia, 2006). Penelitian Sihite (2009) menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri pada rimpang jeringau, sedangkan ekstrak metanol rimpang jeringau diketahui memiliki aktivitas antimikroba diantaranya terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffeii* (Phongpaichit, 2005).

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan Muthuraman dan Singh (2012) bahwa dari ekstrak metanol *Acorus calamus* mengandung saponin, flavonoid, dan senyawa fenolik pada tingkat yang sangat tinggi, tanin dan alkaloid pada tingkat menengah dan yang berada pada tingkat sangat rendah yaitu steroid. Tanaman yang lain seperti legundi dapat menjadi alternatif larvasida. Legundi memiliki senyawa bioaktif seperti saponin, flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri yang dapat membasmi jentik nyamuk dengan cara kerja mirip bubuk Abate (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Beberapa penelitian lainnya yang telah dilakukan sebelumnya, saponin dan alkaloid memiliki cara kerja sebagai racun perut dan menghambat kerja enzim kolinesterase pada larva sedangkan flavonoid dan minyak atsiri berperan sebagai racun pernapasan sehingga menyebabkan kematian. Penelitian oleh Fika Reni (2008) menunjukkan bahwa daun tembelekan dalam bentuk tumbuhan, berhasil mengusir nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 51,33% yaitu pada jumlah 250 lembar daun. Hasil uji pendahuluan yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 1%, 2,5%, 5%, dan 10% menunjukkan bahwa pada konsentrasi terendah ekstrak daun Tembelekan (1%) sudah menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* yaitu 17 ekor (68%). Kematian tertinggi yaitu sebesar 100% (25 ekor) terdapat pada konsentrasi 5% dan 10%, sedangkan pada kontrol dengan *aquadest* tidak ada kematian larva *Aedes aegypti*.

Penelitian Mardiyah S (2005) ekstrak daun Gigil menunjukkan bahwa kematian larva *Aedes aegypti* dari ekstrak daun Gigil disebabkan karena kandungan saponin yang bertindak sebagai racun perut serta minyak atsiri dan flavonoid sebagai racun pernapasan. Selain itu, berdasarkan penelitian ekstrak daun Pare menunjukkan bahwa kematian larva *Aedes aegypti* dari ekstrak daun Pare disebabkan karena alkaloid daun Pare merupakan salah satu bagian yang pahit yaitu *momordicin* yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau

racun perut. Selain itu zat aktif lain adalah minyak atsiri dan flavonoid yang bekerja sebagai racun pernapasan, serta saponin yang bekerja sebagai racun perut.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Susanti (2013), bahwa untuk ekstrak *n*-heksan pada konsentrasi 1% dan 5% tidak berbeda jauh dengan kontrol negatif, pada konsentrasi 1% dan 5% masing-masing persen hinggapan nyamuk yaitu 12,5% artinya dari 8 ekor nyamuk yang diujikan ada 1 ekor yang menghinggap untuk masing-masing konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan dengan konsentrasi 1% dan 5% kurang memperlihatkan aktivitas sebagai *repellent*. Sedangkan pada konsentrasi 10% sama dengan kontrol positif, dari 8 ekor nyamuk yang diujikan tidak ada nyamuk yang menghinggap, hal ini menunjukkan ekstrak *n*-heksan dengan konsentrasi 10% memperlihatkan aktivitas sebagai *repellent*.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan tumbuhan rimpang jeringau (*Acorus calammus*. L) yang bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif repellent nyamuk dari ekstrak *n*-heksan rimpang jeringau.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo. Penelitian ini dilakukan selama \pm 5 bulan, yaitu dari bulan Februari sampai bulan Juli 2015.

Reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol, aseton, aquades, *n*-heksan, eter, asam sulfat pekat, NaOH, silica gel, asam klorida pekat, asam asetat glacial, serbuk Magnesium, klorofom, pereaksi Dragendorff dan pereaksi fitokimia (pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Hager). Bahan tumbuhan yang digunakan adalah rimpang dari Jeringau.

Tahap-tahap Penelitian

Pengumpulan dan Pengolahan Bahan

Rimpang Jeringau *Acorus calammus* yang diperoleh dari daerah Gorontalo dalam keadaan basah yang kemudian dicuci dan dikering anginkan diudara terbuka tanpa disinari sinar matahari. Selanjutnya dirajang kecil-kecil dan digiling hingga membentuk serbuk kayu.

Ekstraksi

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang paling sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam cairan penyari. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia

yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Soebagio dkk (2005). Sampel yang sudah halus sebanyak 500 gr dimaserasi dengan menggunakan metanol kemudian didiamkan dan ditutup selama 24 jam dengan 4 kali perendaman, dan dikocok berulang-ulang. Setelah tepat 24 jam ekstrak disaring. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan pada suhu 40-45°C dengan menggunakan *rotary evaporator* agar mendapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental metanol sebanyak 55,38937 g dilarutkan dalam metanol:air (1:2). Perbandingan ini digunakan agar ekstrak dapat larut pada kepolaran yang cukup sehingga dapat dipisahkan dengan cara partisi dengan pelarut *n*-heksan dan Etil asetat. Ekstrak ini dilakukan partisi untuk mendapatkan fraksi-fraksi berdasarkan tingkat kepolarannya, hal ini dilakukan untuk lebih memudahkan pada saat pemisahan dan pemurnian. Fraksi-fraksi tersebut adalah fraksi *n*-heksan merupakan fraksi non polar, etil asetat fraksi semi polar dan fraksi metanol-air adalah fraksi polar. Kemudian diuji fitokimia.

Uji Fitokimia

Identifikasi Alkaloid

Timbang 500 mg ekstrak kental metanol rimpang jeringau, tambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Pindahkan 3 ml filtrat pada kaca arloji kemudian tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff LP, jika terjadi endapan coklat maka simplisia tersebut mengandung alkaloid. Jika dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam methanol maka ada kemungkinan terdapat alkaloid.

Identifikasi Flavonoid

1 mL larutan diuapkan, sisa dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%) P, tambahkan 500 mg serbuk seng P dan 2 ml, asam klorida 2 N, diamkan selama 1 menit, tambahkan 10 tetes asam klorida pekat, jika dalam 2-5 menit terbentuk warna merah berarti mengandung flavonoid.

Identifikasi Tanin

Timbang 500 mg ekstrak kental metanol rimpang jeringau, tambahkan 50 mL aquadest, dididihkan selama 15 menit lalu dinginkan. Pindahkan 5 mL filtrat pada tabung reaksi, teteskan pereaksi besi (III) klorida, bila terjadi warna hitam kehijauan menunjukkan adanya golongan senyawa tanin.

Identifikasi Saponin

Timbang 500 mg ekstrak kental metanol rimpang jeringau masukan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik terbentuk buih putih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang, menunjukkan bahwa dalam simplisia tersebut mengandung saponin.

Identifikasi Terpenoid

Timbang 500 mg ekstrak kental metanol rimpang jeringau tambahkan 20 mL eter dan maserasi selama 2 jam, pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, teteskan pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat glasial-asam sulfat pekat), bila terbentuk warna merah atau hijau menunjukkan senyawa steroid/triterpenoid.

Pemisahan dan Pemurnian

Ekstrak fraksi *n*-heksan yang akan dipisahkan terlebih dahulu dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mencari eluen yang sesuai sebagai fasa gerak pada pemisahan kromatografi kolom. Selanjutnya ekstrak fraksi *n*-heksan sebanyak 4 gr dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel GF dan dielusi berturut-turut menggunakan pelarut organik seperti *n*-heksan, metanol, etil asetat dengan perbandingan tertentu. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari tahapan kromatografi kolom dilakukan proses kromatografi lapis tipis kembali untuk menggabungkan fraksi-fraksi yang sama harga R_f -nya. Pola noda akan terbentuk pada setiap fraksi. Jika isolat tetap menunjukkan pola noda tunggal, maka isolat telah murni.

Identifikasi Senyawa

Isolat murni dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimum isolat murni sedangkan spektrofotometri IR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi dari suatu senyawa yang terkandung dalam rimpang jeringau (*Acorus calammu. L*) Untuk mekanisme kerja UV-Vis dan IR terlihat pada Lampiran.

Pengujian Aktivitas Senyawa aktif repellent

Pengujian aktivitas *repellent* nyamuk dilakukan terhadap hewan uji yaitu nyamuk yang berasal dari alam bebas. Nyamuk tersebut dikelompokkan secara acak kedalam kandang, di dalam kandang berisi sekitar 40 ekor nyamuk. Sementara objek yang digunakan dalam uji ini adalah lengan 8 orang relawan. Pengujian aktivitas *repellent* dilakukan dengan mengoleskan ekstrak dan isolat rimpang jeringau pada lengan relawan dengan 4 kali pengulangan yaitu kontrol (metanol), ekstrak dan isolat rimpang jeringau dengan

konsentrasi 0,1 %, 0,5 %, 1%, 3 %, 5%, 7 % dan 10%. Banyaknya masing-masing perlakuan yang digunakan yaitu kontrol (metanol) dan sampel dengan konsentrasi 0,1%, 0,5%, 1%, 3 %, 5%, 7 % dan 10% yaitu 10 ml. Diamati hinggapan nyamuk selama 1 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel biji tumbuhan rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L) sebanyak 500 gr dimaserasi dengan metanol setelah dihaluskan terlebih dahulu. Proses penghalusan bertujuan untuk merusak dinding sel hingga proses ekstraksi berlangsung lebih baik dan cepat. Cara maserasi ini dipilih karena senyawa aktif yang terkandung di dalam rimpang ini belum di ketahui karakternya sehingga cara ekstraksi dengan pemanasan dihindari untuk mencegah terdekomposisi nya senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Pelarut diganti tiap 24 jam hingga diperoleh maserat. Maserat yang terkumpul sebanyak 1600 mL kemudian diuapkan dengan alat penguap vakum pada suhu paling tinggi 45 °C sehingga diperoleh 94,77555 gr ekstrak kental metanol.

Ekstrak kental metanol sebanyak 55,38937 gr dilarutkan dalam metanol:air (1:2). Perbandingan ini digunakan agar ekstrak dapat larut pada kepolaran yang cukup sehingga dapat dipisahkan dengan cara partisi dengan pelarut *n*-heksan dan Etil asetat. Ekstrak ini dilakukan partisi untuk mendapatkan fraksi-fraksi berdasarkan tingkat kepolarannya, hal ini dilakukan untuk lebih memudahkan pada saat pemisahan dan pemurnian. Fraksi-fraksi tersebut adalah fraksi *n*-heksan merupakan fraksi non polar, etil asetat fraksi semi polar dan fraksi metanol-air adalah fraksi polar.

Hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap metanol-air, ekstrak metanol, ekstrak *n*-heksan serta ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif flavonoid, hal ini di tunjukkan dengan adanya perubahan warna ketika ditetesi reagen. Hasil uji alkaloid pada ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksan menunjukkan hasil positif, hal ini ditandai dengan adanya endapan saat penambahan reagen alkaloid pada setiap pengujian. Untuk hasil uji terpenoid pada ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat serta metanol-air menunjukkan hasil positif

dengan identifikasi perubahan warna merah kecoklatan pada saat penambahan reagen. Hasil uji saponin pada ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksan menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya busa, sedangkan untuk metanol-air dan fraksi etil asetat menunjukkan hasil yang negatif.

Pemisahan dan Pemurnian

Pada proses ini dilakukan terlebih dahulu KLT yang bertujuan untuk mencari perbandingan eluen yang cocok dan baik yang digunakan dalam kromatografi kolom, dengan menggunakan beberapa perbandingan eluen yaitu etil asetat:metanol (9 :1), *n*-heksan:metanol (9:1) dan *n*-heksan:etil asetat (7:3). Hasil KLT terlihat pada Gambar 1.

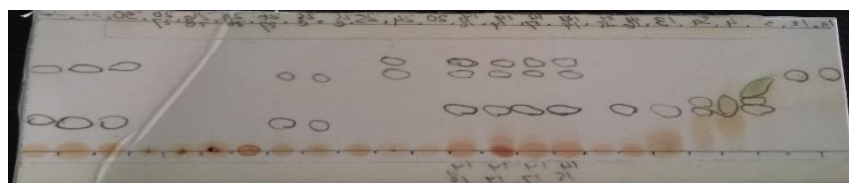


Gambar a Gambar b Gambar c

Gambar 1. Hasil KLT pertama untuk mencari perbandingan yang bagus. Gambar a menggunakan perbandingan eluen etil asetat:*n*-heksan (9:1), gambar b *n*-heksan:etil asetat (9:1) dan gambar c *n*-heksan:etil asetat (7:3)

Ekstrak kental metanol sebanyak 15 gr di lakukan pemisahan dengan Kromatografi kolom, dengan adsorben silika gel sebanyak 34,9 gr. Variasi perbandingan pelarut yang digunakan (eluen) *n*-heksan:etil asetat bergradien yang dimulai dengan *n*-heksan 100%, *n*-heksan:etil asetat (7:3), *n*-heksan:etil asetat (6:4), etil asetat:metanol (7:3), etil 100%, etil asetat:metanol (6:4), metanol:etil asetat (6:4), metanol 100%, dari perlakuan ini di peroleh 49 fraksi.

Selanjutnya 49 fraksi ini dianalisis dengan teknik KLT dengan cara menggabungkan beberapa fraksi yang memiliki warna yang sama, kemudian diambil perwakilan dari masing-masing fraksi gabungan tersebut, dengan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksan:etil asetat (7:3). Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Profil Kromatografi Lapis Tipis hasil pemisahan kromatografi kolom, fasa gerak *n*-heksan :etil asetat (7:3)

Berdasarkan hasil uji KLT pada Gambar 2. fraksi-fraksi yang menunjukkan noda yang sama digabungkan kedalam fraksi gabungan, kemudian diKLT kembali dengan menggunakan perbandingan eluen yang sama.

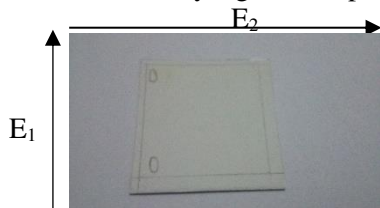
Fraksi 1a - 1c menunjukkan adanya minyak yang berwarna kuning serta beraroma wangi dan pada plat KLT nya menunjukkan adanya noda tunggal dengan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksan:etil asetat (7:3). Fraksi 1a - 1c tersebut digabungkan kedalam fraksi gabungan, kemudian dilakukan uji KLT kembali dengan perbandingan eluen *n*-heksan:etil asetat (7:3). Pola noda yang dihasilkan dari uji KLT tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Perbandingan 7:3 (*n*-heksan:etil asetat) 1a, 1b dan 1c

Uji Kemurnian Isolat

Uji kemurnian isolat dilakukan dengan teknik analisis KLT dua dimensi dengan menggunakan silika gel GF₂₅₄ dengan variasi perbandingan eluen E₁ *n*-heksan:etil asetat (7:3) dan E₂ kloroform:metanol (8:2). Hasil KLT menunjukkan bercak noda tunggal dengan harga R_f E₁ 0,925 dan E₂ 0,95 yang terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil KLT dua dimensi menggunakan eluen 7:3 (*n*-heksan : etil asetat) sebagai E₁ dan elusi kedua menggunakan eluen 8:2 (kloroform : metanol) sebagai E₂

Uji Fitokimia Isolat

Kepolaran pelarut merupakan pertimbangan penting dalam ekstraksi senyawa flavonoid. Menurut Andersen dan Markham (2006), flavonoid yang memiliki kepolaran yang rendah, seperti isoflavan, flavanon, flavon metil dan flavonol, dalam ekstraksinya menggunakan pelarut kloroform, dietil eter, atau etil asetat pada flavonoid glikosida. Sedangkan pada flavonoid yang memiliki tingkat kepolaran aglikon dapat

diekstraksi dengan alkohol atau campuran alkohol-air. Lebih lanjut, untuk bahan serbuk dari tumbuhan dapat juga diekstraksi dengan heksana untuk memecahkan kandungan lemaknya dan dengan pelarut etil asetat atau etanol untuk kandungan fenolnya. Namun pendekatan ini tidak cocok dengan senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas. Pelarut non polar memiliki kemampuan untuk memecah kandungan lemak (lipida) yang terdapat dalam serbuk yang ekstraksi. Pemecahan lemak tersebut akan memudahkan dalam mengekstraksi senyawa target flavonoid yang memiliki sifat polar. Senyawa polar biasanya akan lebih baik diekstraksi dengan pelarut golongan polar seperti etanol atau metanol. (Harbone, 1984). Hal ini sejalan dengan Markham (1988), untuk membebaskan senyawa yang kepolarannya rendah seperti lemak, terpena, klorofil, xantofil dan lainnya dengan ekstraksi menggunakan heksana atau kloroform.

Terhadap fraksi 1 dilakukan uji fitokimia flavonoid, alkaloid dan steroid/terpenoid. Hal ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada isolat. Hasil uji fitokimia disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji Flavonoid, Alkaloid dan uji Steroid/Terpenoid pada isolate

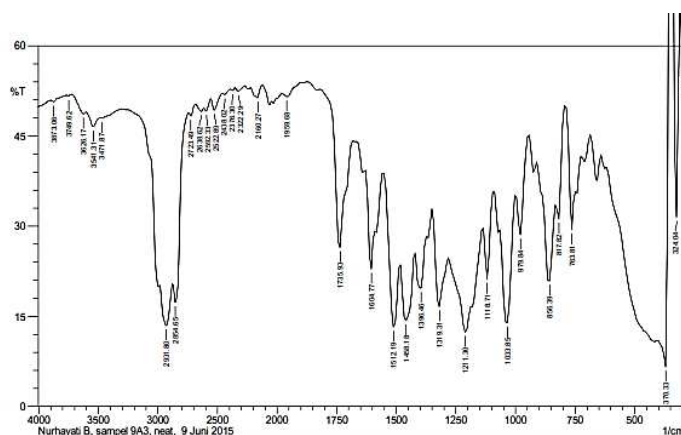
Pereaksi Uji Alkaloid			
Hager	Dragendorff	Mayer	wagner
	Tidak terbentuk endapan	Tidak terbentuk endapan	Tidak terbentuk endapan
+	terbentuk endapan	terbentuk endapan	terbentuk endapan
Pereaksi Uji Flavonoid			
HCl + serbuk Mg	H ₂ SO ₄	NaOH	
Terjadi perubahan warna	Terjadi perubahan warna	Terjadi perubahan warna	
Pereaksi Uji Terpenoid			
Tidak terbentuk warna merah bata (-)			

Catatan: (+) Positif Flavonoid, alkaloid dan Terpenoid sedangkan (-) Negatif Flavonoid, Alkaloid dan Terpenoid

Berdasarkan hasil uji fitokimia isolat murni menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid yang ditandai dengan adanya perubahan warna, sedangkan untuk uji alkaloid dan terpenoid menunjukkan hasil yang negatif.

Karakterisasi Senyawa

Isolat murni yang merupakan fraksi dari hasil kolom yang telah diuji fitokimia murni dikarakterisasi dengan menggunakan Spektrofotometer IR dan Spektrofotometer UV-Vis.

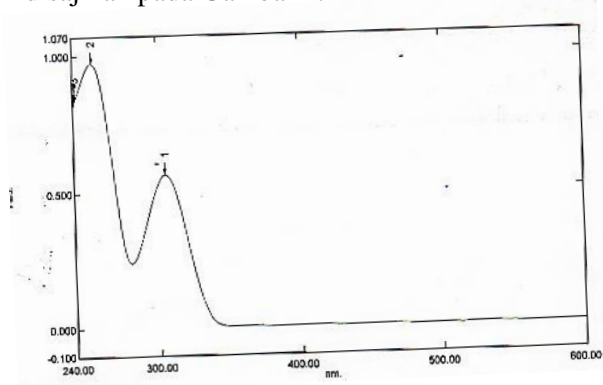


Gambar 5. Spektrum inframerah dari isolat menunjukkan adanya gugus-gugus fungsi ulur O-H, ulur C-H, ulur C=O, ulur C=C aromatik, tekuk O-H, tekuk C-H dan ulur C-O alkohol

Tabel 2. Data spektrum IR dari Isolat Murni

Isolat	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)				Bentuk pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi
	Than dkk, 2005	Daniel, 2010	Pustaka Silverstein dkk, 1984	Pustaka Sudjadi, 1983			
3348,42	2928	2924,09	-	2926	Lebar	Lemah	Ulur O-H
2931,80	2853	2854,65	2830-2695	2853	Lebar	Kuat	Ulur C-H
1728,22	1717	1728,22	1870-1540	-	Tajam	Kuat	Ulur C=O
1604,77	1649	1604,77	1667-1640	1610-1650	Tajam	Kuat	Ulur C=C aromatik
1458,18	1465	1458,18	1420	1465	Tajam	Kuat	Tekuk O-H
1319,31	1361	1373,32	1330	1370	Tajam	Lemah	Tekuk C-H
1211,30	1262	1265,30	1260-1000	-	Lebar	Lemah	Ulur C-O alkohol

Isolat selanjutnya dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dari UV-Vis ini disajikan pada Gambar 4.6 berikut.



Gambar 4.6. Spektrum UV-Vis dari isolat dalam pelarut *n*-heksan menunjukkan 2 pita dengan serapan gelombang maksimum pada 304,78 dan 253,76 nm

Uji Aktivitas *Repellent* dari Ekstrak Rimpang Jeringau Terhadap Nyamuk

Uji aktivitas *repellent* merupakan uji yang dilakukan untuk melihat aktivitas penolakkan suatu ekstrak yang berasal dari tumbuhan yang bisa digunakan sebagai insektisida hayati terhadap

Berdasarkan hasil spektroskopi UV-Vis memperlihatkan 2 pita yaitu pada pita 1 serapan panjang gelombang 304,78 nm dan absorbansi 0,564 sedangkan pada pita 2 serapan panjang gelombang 253,76 nm dan absorbansinya 0,973. Serapan ini mendekati literatur serapan panjang gelombang dari senyawa flavonoid.

Pita serapan panjang gelombang dan absorbansi isolat murni dari spektrum UV-Vis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data spektrum UV-Vis untuk panjang gelombang dan absorbansi dari isolat murni

Pita	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
I	304,78	0,564
II	253,76	0,973

hewan uji yang digunakan. Hewan yang digunakan sebagai hewan uji adalah nyamuk yang berasal dari alam bebas. Pada proses uji *repellent* ini nyamuk terlebih dahulu dipuaskan selama 1 jam, tujuannya yaitu agar nyamuk dalam keadaan lapar sehingga pada saat pengujian *repellent* nyamuk

bisa beraktivitas secara maksimal. Pada lengan kanan diolesi dengan ekstrak dari rimpang jeringau sedangkan pada lengan kiri diolesi dengan metanol sebagai kontrol.

Nyamuk yang digunakan sebanyak 40 ekor yang sudah dipuasakan, kemudian dimasukkan kedalam kandang yang telah disediakan, pengamatannya berlangsung selama 1 jam untuk menghitung berapa jumlah nyamuk yang hinggap pada kedua lengan yang telah diolesi sampel ekstrak dan kontrol tersebut.

Setelah dilakukan pengolahan data terhadap hasil penelitian yang sesuai dengan rumus yang ada, maka didapatkan persen hinggap nyamuk untuk

ekstrak kental fraksi *n*-heksan, isolat murni dan metanol sebagai kontrol, dengan menggunakan konsentrasi 0,1%, 0,5%, 1%, 3%, 5%, 7% dan 10%.

Hasil persen hinggap nyamuk dari ekstrak *n*-heksan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,1% memiliki aktivitas *repellent* 8% artinya ada 12 ekor nyamuk yang hinggap pada 4 kali pengulangan, untuk konsentrasi 0,5% memiliki aktivitas *repellent* 7%, konsentrasi 1% memiliki aktivitas *repellent* 6%, konsentrasi 3% memiliki aktivitas *repellent* 3%. Persen hinggap nyamuk untuk ekstrak *n*-heksan terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji *Repellent* nyamuk dari Ekstrak *n*-heksan

Konsentrasi	% Hinggapan Nyamuk	Rata-rata Hinggapan Nyamuk (Mean ± SD)	Nilai Signifikan (α = 0,05)
0,1%	8	7,500 ± 2.0412 ^c	0,000 ≤ α =0,05
0,5%	7	6,875 ± 2.3936 ^c	
1%	6	5,625 ± 3.1458 ^b	
3%	3	3,125 ± 1.2500 ^b	

Bila dilihat dari persen rata-rata hinggap nyamuk isolat murni pada tabel 4.16 konsentrasi 0,1% memiliki tingkat *repellent* 8% artinya dari 40 ekor nyamuk yang di ujikan terdapat 12 ekor nyamuk yang hinggap pada 4 kali pengulangan, konsentrasi 0,5% memiliki aktivitas *repellent* 5%

dan konsentrasi 1% memiliki aktivitas *repellent* 4%. Sedangkan pada konsentrasi 3% memiliki aktivitas *repellent* 0% artinya pada 4 konsentrasi tersebut tidak terdapat hinggap nyamuk. Hasil uji *repellent* terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji *Repellent* Nyamuk dari Isolat Murni

Konsentrasi	% Hinggapan Nyamuk	Rata-rata Hinggapan Nyamuk (Mean ± SD)	Nilai Signifikan (α = 0,05)
0,1%	8	2,375 ± 1.826 ^a	0,005 ≤ α =0,05
0,5%	5	2,500 ± 0.500 ^a	
1%	4	3,125 ± 1.000 ^a	
3%	0	3,500 ± 0,000 ^a	

Pada penelitian ini isolat murni dengan konsentrasi 0,1 %, 0,5 % dan 1% memperlihatkan aktivitas yang kurang baik sebagai *repellent* dibandingkan dengan konsentrasi 3%, hal ini kemungkinan diakibatkan oleh ekstrak yang ada pada konsentrasi 0,1%, 0,5% dan 1% mengandung komponen senyawa dengan dosis atau kadar yang rendah. Sedangkan pada ekstrak berbeda dengan isolat murni, pada setiap konsentrasi yang diujikan memperlihatkan aktivitas *repellent* yang kurang baik dengan waktu percobaan selama 1 jam.

Terjadinya aktivitas *repellent* nyamuk pada berbagai konsentrasi ini disebabkan oleh banyaknya senyawa aktif yang kontak langsung dengan nyamuk. Semakin tinggi konsentrasi maka

senyawa aktif yang diterima oleh nyamuk tersebut semakin banyak. Senyawa yang terkandung dalam isolat murni rimpang jeringau ini adalah flavonoid. Flavonoid yang terkandung dalam rimpang jeringau ini memiliki cara kerja yang sama dengan minyak atsiri yaitu dengan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati (Robinson (1995) dalam Ratih dkk (2010)).

Hasil uji aktivitas *repellent* dapat dihitung standar deviasinya melalui hasil uji aktivitas *repellent* dari ekstrak dan isolat murninya. Standar

deviasinya bergantung pada % hinggapan yang diperoleh sehingga pada isolat murni standar deviasinya dengan konsentrasi 3% memiliki standar deviasi 0. Hal ini disebabkan karena % hinggapan nyamuk pada isolat menghasilkan data 0%.

Hasil uji statistik dengan menggunakan Anova oneway dan uji Duncan untuk melihat perbedaan dari setiap konsentrasi pada aktivitas uji *repellent* nyamuk ekstrak *n*-heksan dan isolat murni. Hasil uji ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak maupun isolat rimpang jeringau terhadap aktivitas *repellent* nyamuk. Hal ini diketahui dengan adanya perbedaan nyata yang terdapat pada kedua hasil presentase keaktifan *repellent* nyamuk yang ditunjukkan dengan nilai signifikan yang diperoleh yaitu ($<0,05$).

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa hasil skrining fitokimia pada isolat murni rimpang jeringau menunjukkan positif flavonoid. Senyawa aktif *repellent* yang baik pada rimpang jeringau terhadap nyamuk terdapat dalam isolat murni. Konsentrasi isolat murni larutan uji yang efektif sebagai *repellent* adalah konsentrasi 3 %, 5 %, 7 % dan 10 %. Hasil analisis spektrum IR menghasilkan gugus-gugus fungsi ulur O-H ($3348,42\text{ cm}^{-1}$), ulur C-H ($2931,80\text{ cm}^{-1}$; $2854,65\text{ cm}^{-1}$), ulur C=O ($1728,22\text{ cm}^{-1}$), ulur C=C aromatik ($1604,77\text{ cm}^{-1}$), tekuk C-H ($1319,31\text{ cm}^{-1}$) ulur C-O alkohol ($1211,30\text{ cm}^{-1}$) yang diduga kemungkinan merupakan golongan senyawa flavonoid. Hasil analisis spektrum UV-Vis menghasilkan 2 pita pada serapan panjang gelombang pada pita I $304,78\text{ nm}$ dan pita II $253,76\text{ nm}$ yang mendekati serapan bilangan gelombang flavonoid.

Adanya senyawa yang terkandung dalam isolat murni rimpang jeringau yang efektif sebagai *repellent* nyamuk, maka disarankan agar perlu diadakan uji coba dengan menggunakan spesies nyamuk yang sama

DAFTAR PUSTAKA

Atsiri Indonesia. 2006. (<http://atsiri-indonesia.com/index.php?page=tanaman-atsiri&o=9>) diakses tanggal 14 Jan 2015

Daniel. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat dari Daun Tumbuhan Sirih Merah*. Mulawarman

Scientific. Universitas Mulawarman. Samarinda

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira. Bandung: ITB Press.

Mardiyah S. 2005. Efikasi Ekstrak Daun Gigil (*Dichroa febrifuga* Lour) Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*. Skripsi. Semarang: FKM UNDIP.

Markham, K. R. 1988. *Techniques of flavanoid identification*. London: Academic

Moehammad, N. 2005. Potensi biolarvasida Ekstrak herba *Ageratum conyzoides* Linn. dan daun *Saccopetalum horsfieldii* Benn. Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Jurnal Berk. Penel. Hayati*. 10, 1-4

Phongpaichit, S., Nongyao, P., Vatcharin, R., Metta, O. 2005. Antimicrobial activities of the crude methanol extract of *Acorus calamus* Linn. *Songklanakarinn Journal Science Technology*, Vol. 27, No. 2, hal. 517-523, diakses pada 7 Oktober 2015, <http://www.sjst.psu.ac.th/journal/ThaiHerbs-pdf/08-Acorus-calamus-Linn.pdf>.

Ratih, S. W., Mifbakhuddin., Kiky, Yokorinanti. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Tembelean (Lantanacamarum) Terhadap Kematian Larva Aedes Aegypti*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang

Reni F. 2008. *Efikasi Tanaman Lavender Dan Lantana camara Sebagai Penolak Nyamuk Aedes aegypti*. Skripsi. Semarang: FKM UNDIP.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.

Silverstein, Bassler., Moril. 1984. *Penyedikan Spektrometri Senyawa Organik*. Edisi ke-4, Jakarta: Erlangga.

Susanti. A. 2013. *Uji Aktivitas Reppellent Nyamuk dari Ekstrak Daun Jeringau (Acorus calamus. L)*. Skripsi. Program sarjana Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.

Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Yudistira. Fakultas Farmasi UGM

Soebagio., Budiasih, Endang., Ibnu, Sodik., Widarti, Retno., H, Munzil. 2003. *Kimia Analitik II*. Universitas Negeri Malang. JICA.

Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi kedua. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Than, N.N., S. Fotso., B. Poeggeler., R. Hardeland., H. Laatsch. 2005. *Niruriflavone, A New Antioxidant Flavone Sulfonic Acid from Phyllanthus niruri*. Germany: Department of Organic and Biomolecular Chemistry.