

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi

Metode yang digunakan dalam ekstraksi limbah penyulingan minyak akar wangi adalah maserasi dengan pelarut etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut dikarenakan etanol merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder. Sampel yang berupa limbah penyulingan minyak akar wangi dalam bentuk serbuk berwarna coklat (Gambar 4.1) yang sebelumnya telah dicuci dan dibersihkan, direndam dengan etanol selama 24 jam. Karena perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, maka etanol akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif yang termasuk metabolit sekunder. Senyawa-senyawa tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak ke luar. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi larutan antara di luar dan di dalam sel.



Gambar 4.1 Serbuk limbah penyulingan minyak akar wangi.

Setelah proses maserasi selesai, kemudian dilakukan penyaringan sehingga diperoleh cairan yang berwarna coklat kemerahan (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Cairan hasil penyaringan dari proses maserasi.

Hasil penyaringan ini lalu dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi berwarna coklat kemerahan yang lebih pekat (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Cairan hasil pemekatan dengan *rotary evaporator*.

Perhitungan Randemen:

- Massa limbah penyulingan minyak akar wangi basah = 10 kilogram
- Massa limbah penyulingan minyak akar wangi kering = 1,1 kilogram
- Massa serbuk limbah penyulingan minyak akar wangi = 800 gram
- Massa ekstrak sampel pekat = 28,342 gram
- Randemen total: $\frac{28,342 \text{ gram}}{10.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,283\%$

4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) dengan pelarut etanol dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*)

Tes Uji	Hasil
Alkaloid	-
Steroid	-
Terpenoid	+
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	+

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia dalam suatu tanaman. Dari Tabel 4.1, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan akar wangi menunjukkan hasil positif untuk senyawa fitokimia jenis terpenoid, flavonoid dan saponin.

Pada skrining terpenoid menunjukkan hasil yang positif karena warna larutan berubah menjadi merah (Gambar 4.4) yang menandakan adanya senyawa terpenoid ketika larutan sampel ditambahkan dengan CH_3COOH glasial dan H_2SO_4 pekat.



Gambar 4.4 Hasil tes untuk uji terpenoid.

Pada skrining flavonoid menunjukkan hasil yang positif karena warna larutan berubah menjadi warna kuning (Gambar 4.5) ketika sampel ditambahkan dengan serbuk Mg dan HCl pekat yang hal ini menandakan keberadaan senyawa jenis flavonoid. Pada skrining saponin menunjukkan hasil positif karena larutan sampel timbul buih atau busa setelah ditambahkan dengan air dan dikocok dengan kuat selama 10 menit.



Gambar 4.5 Hasil tes untuk uji flavonoid.

Sedangkan yang menunjukkan hasil negatif adalah pada skrining fitokimia jenis alkaloid, steroid, dan tanin. Pada skrining alkaloid menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuknya endapan putih (Gambar 4.6) ketika larutan sampel ditambahkan dengan kloroform dan pereaksi Meyer.



Gambar 4.6 Hasil tes untuk uji alkaloid.

Pada skrining steroid menunjukkan hasil negatif karena larutan sampel tidak berubah warna biru atau ungu (Gambar 4.7) ketika ditambahkan dengan CH_3COOH glasial dan H_2SO_4 pekat yang berarti menandakan tidak terdapatnya senyawa jenis steroid.



Gambar 4.7 Hasil tes untuk uji steroid.

Pada skrining tanin menunjukkan hasil negatif karena larutan sampel tidak berubah warna menjadi biru tua (Gambar 4.8) ketika ditambahkan dengan larutan FeCl_3 5% yang hal ini menandakan tidak adanya senyawa tanin dalam ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi.

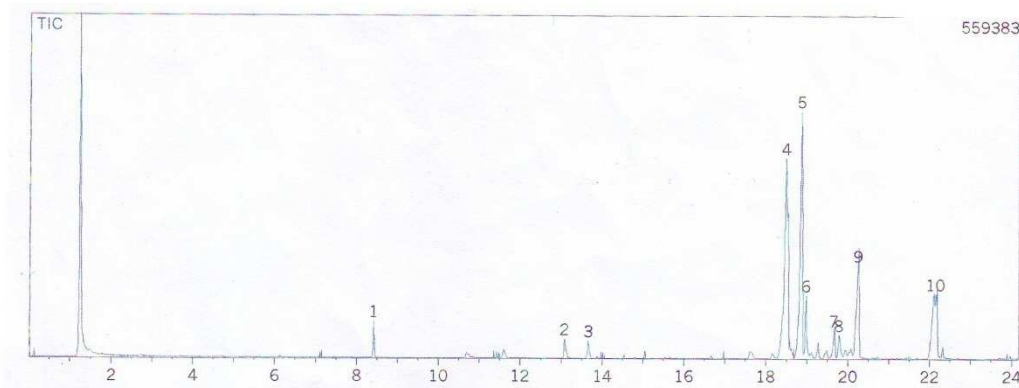


Gambar 4.8 Hasil tes untuk uji tanin.

4.3 Analisis dan Identifikasi Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi dengan GC-MS

Dalam analisis dan identifikasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi digunakan spektrometri GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*). Dalam metode ini, spektrometri massa digabungkan dengan metode kromatografi gas. Senyawa isolat dianalisis terlebih dahulu menggunakan kromatografi gas yang selanjutnya setiap komponen dianalisis menggunakan spektrometri massa. Kromatogram GC (*Gas Chromatography*) dari senyawa hasil isolasi ditunjukkan oleh Gambar 4.9 yang terdiri dari 10 puncak. Tiap puncak

hasil GC, dianalisis dengan MS (*Mass Spectrometry*) yang selanjutnya dibandingkan dengan *data base* (pustaka) yang ada.



Gambar 4.9 Kromatogram GC ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi.

Parameter pengukuran analisis spektrometri GC-MS pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi diperlihatkan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Parameter pengukuran analisis spektrometri GC-MS

Parameter	Keterangan
Merk alat	Shimadzu QP 5050 Z
Detektor	DB 5 MS
Suhu kolom	60 ⁰ C
Suhu detektor	300 ⁰ C
Suhu injector	280 ⁰ C
Waktu analisa	30 menit
Volume injeksi	0,2 µL

Hasil kromatogram GC menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis memiliki 10 komponen dengan 4 komponen dominan yang memiliki waktu retensi (t_R) yang berbeda. Dari keterangan kromatogram GC (Gambar 4.10) terlihat bahwa lima senyawa memiliki kelimpahan < 2% yaitu senyawa 1, 2, 3, 7,

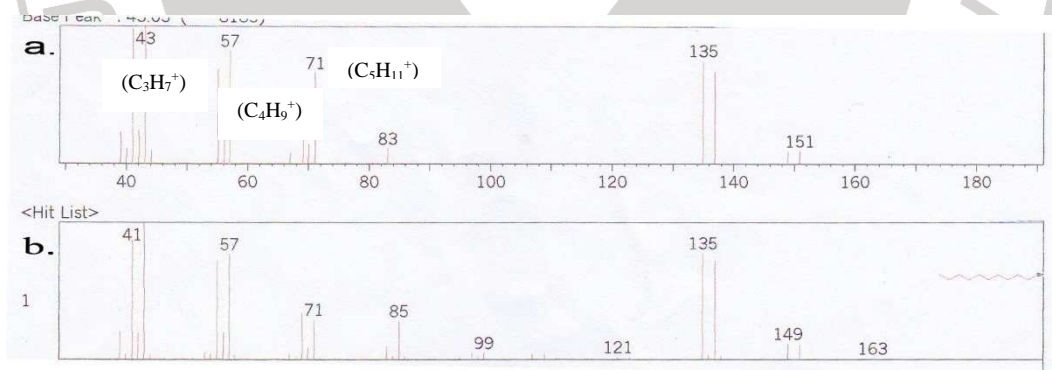
dan 8 dengan nilainya berturut-turut 1,80; 1,74; 1,38; 1,99; dan 1,67%. Sedangkan senyawa 6 memiliki kelimpahan 3,64%. Empat senyawa sisanya yaitu senyawa 4, 5, 9, dan 10 memiliki kelimpahan 35,25; 26,09; 11,18; dan 15,25% secara berturut-turut sehingga merupakan komponen yang dominan dalam isolat tersebut.

**** Peak Report ****

PKNO	R.Time	I.Time - F.Time	Area	Height	A/H(sec)	MK	%Total	Name
1	8.422	8.350 - 8.508	103191	29857	3.456	1.80		
2	13.083	13.008 - 13.183	99435	22182	4.483	1.74		
3	13.659	13.592 - 13.750	78705	18993	4.144	1.38		
4	18.489	18.292 - 18.692	2015565	265983	7.578	35.25	—	
5	18.858	18.692 - 18.933	1491455	294771	5.060	26.09	—	
6	18.976	18.933 - 19.075	208212	55657	3.741	3.64	✓	
7	19.666	19.592 - 19.733	113684	27963	4.065	1.99		
8	19.786	19.733 - 19.875	95623	23187	4.124	1.67	✓	
9	20.241	20.117 - 20.342	639340	119923	5.331	11.18	—	
10	22.145	21.950 - 22.258	871987	92062	9.472	15.25	—	
Total			5717196			100.00		

Gambar 4.10 Keterangan kromatogram GC.

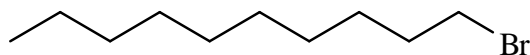
Pada spektra massa puncak 1 (Gambar 4.11a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 151, sedangkan sebagai puncak dasar (ion molekul yang paling stabil; ion fragmen terbanyak) muncul pada m/e 43.



Gambar 4.11 Spektra massa puncak 1.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 1 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.11), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat

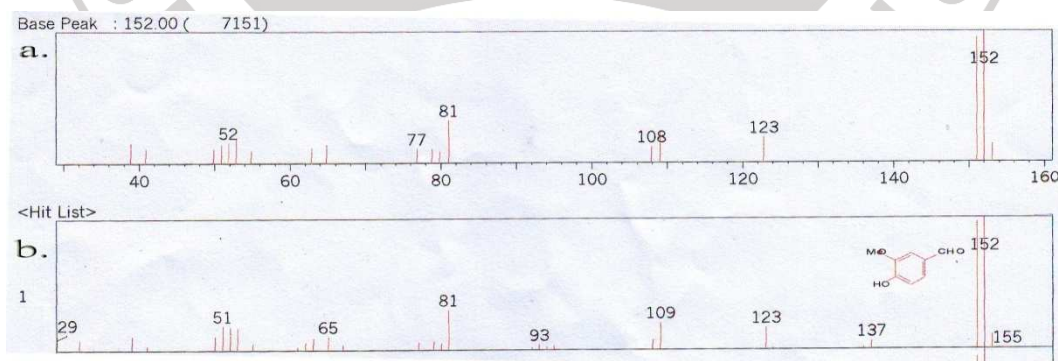
dikatakan bahwa spektra massa puncak 1 merupakan senyawa 1-bromodekana dengan struktur molekul:



Gambar 4.12 Struktur molekul 1-bromodekana.

Hal tersebut diperkuat dengan adanya doublet-doublet pada spektra massa puncak 1 yang merupakan karakteristik yang berhubungan dengan ion-ion yang mengandung Br muncul pada m/e 79/81 (Br^+), m/e 93/95, dan m/e 107/109 di bawah ion molekuler; fragmen-fragmen ini dibentuk oleh pemecahan seperti pada Gambar 4.11a. Selain itu, adanya puncak m/e 57 merupakan ciri dari lepasnya radikal brom.

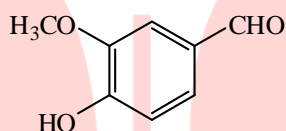
Pada spektra massa puncak 2 (Gambar 4.13a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 152 dan sekaligus sebagai puncak dasar. Hal ini disebabkan oleh stabilisasi inti aromatik yang muncul pada puncak m/e 123 dengan melepaskan fragmen $\text{M} - \text{CH}_3\text{CH}_2$ dan stabilisasi dari atom oksigen yang muncul pada puncak m/e 108 dengan melepaskan fragmen $\text{M} - \text{CH}_2=\text{CHOH}$.



Gambar 4.13 Spektra massa puncak 2.

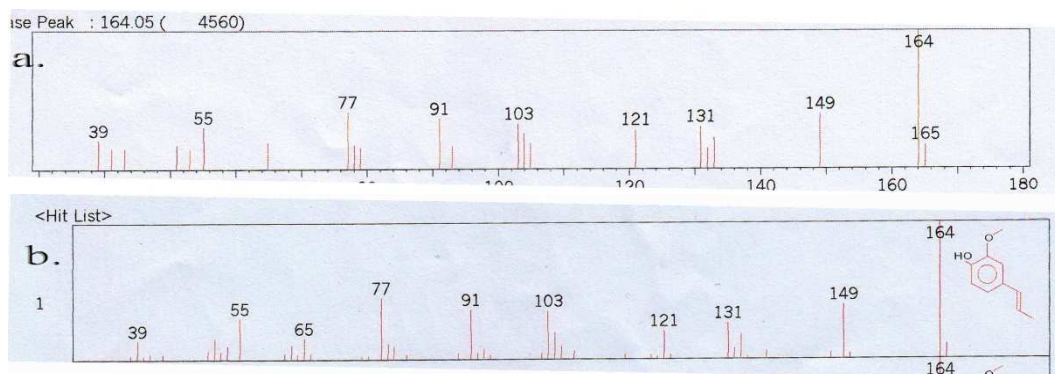
Munculnya puncak pada m/e 108 dan 52 dengan ion fragmen masing-masing $C_7H_8O^+$ dan $C_4H_4^+$, merupakan ciri khas senyawa yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi. Sedangkan munculnya puncak pada m/e 81 dan 77 dengan ion fragmen masing-masing $C_6H_9^+$ dan $C_6H_5^+$, merupakan ciri khas senyawa lingkaran benzen yang tersubstitusi.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 2 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.13), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 2 merupakan senyawa vanilin dengan struktur molekul:



Gambar 4.14 Struktur molekul vanilin.

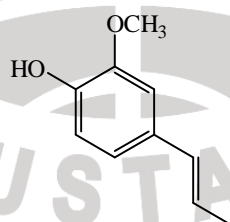
Pada spektra massa puncak 3 (Gambar 4.15a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 164 dan sekaligus sebagai puncak dasar. Hal ini disebabkan oleh stabilisasi inti aromatik yang muncul pada puncak m/e 149 dengan melepaskan fragmen $M - CH_3$ dan stabilisasi dari atom oksigen yang muncul pada puncak m/e 121 dengan melepaskan fragmen $M - CH_2=CH-O$ serta pada puncak m/e 131 dengan lepasnya fragmen $M - CH_3$ dan air ($M - H_2O$). Selain itu terdapat pula puncak ion $M+1$ yaitu pada m/e 165.



Gambar 4.15 Spektre massa puncak 3.

Munculnya puncak pada m/e 91, 55, dan 39 dengan ion fragmen masing-masing $C_7H_7^+$, $C_4H_7^+$, dan $C_3H_3^+$, merupakan ciri khas senyawa yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi. Sedangkan munculnya puncak pada m/e 77 dengan ion fragmen masing-masing $C_6H_5^+$, merupakan ciri khas senyawa lingkaran benzen yang tersubstitusi.

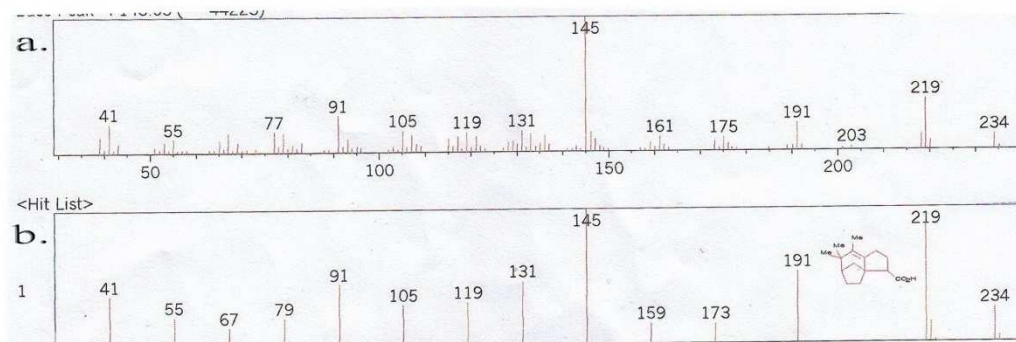
Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 3 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.15), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 3 merupakan senyawa isoeugenol dengan struktur molekul:



Gambar 4.16 Struktur molekul isoeugenol.

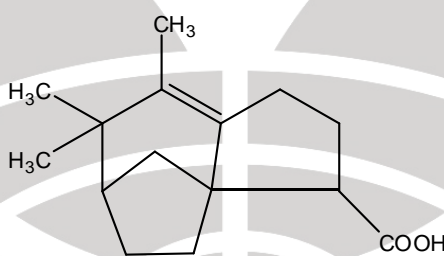
Pada spektra massa puncak 4 (Gambar 4.17a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 234, sedangkan puncak dasarnya pada m/e 145 yang ditandai lepasnya ion fragmen $C_7H_5^+$ merupakan ciri khas dari senyawa

terpen. Munculnya puncak pada m/e 55 dan 41 dengan ion fragmen masing-masing $C_4H_7^+$, dan $C_3H_7^+$, merupakan ciri khas dari titik percabangan unit isopen.



Gambar 4.17 Spektra massa puncak 4.

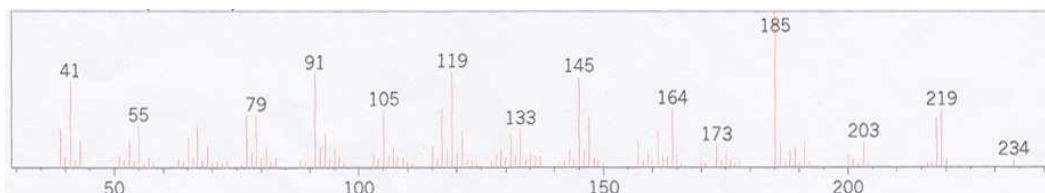
Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 4 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.17), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 4 merupakan senyawa asam isokhusenik dengan struktur molekul:



Gambar 4.18 Struktur molekul asam isokhusenik.

Pada spektra massa puncak 5 (Gambar 4.19) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 234 dan m/e 185 sebagai puncak dasar. Puncak pada m/e 91 yang ditandai lepasnya ion fragmen $C_7H_7^+$ merupakan ciri khas dari senyawa terpen. Munculnya puncak pada m/e 55 dan 41 dengan ion fragmen

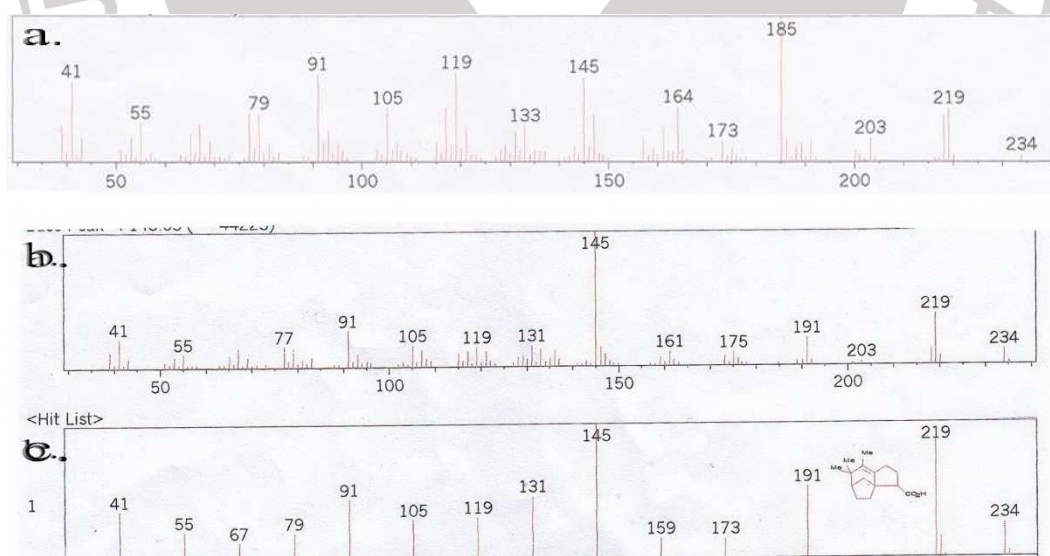
masing-masing $C_4H_7^+$, dan $C_3H_7^+$, merupakan ciri khas dari titik percabangan unit isopen.



Gambar 4.19 Spektra massa puncak 5.

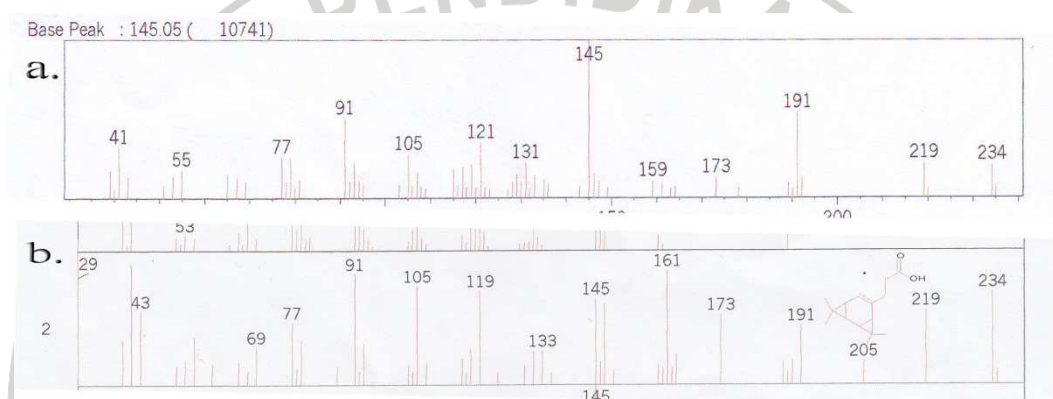
Waktu retensi yang hampir sama pada senyawa 4 dan 5 (Gambar 4.10) menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki kepolaran yang serupa atau titik didih yang berdekatan. Diperkirakan senyawa 4 dan 5 merupakan dua senyawa yang berisomer.

Adanya kemiripan sifat dari kedua senyawa tersebut ditunjukkan oleh spektrum massanya yang mirip atau serupa yang ditunjukkan oleh Gambar 4.20. Sehingga senyawa 5 merupakan isomer dari asam isokhusenik.



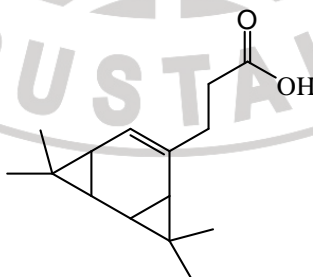
Gambar 4.20 Perbandingan spektra massa puncak 5 dan 4.

Pada spektra massa puncak 6 (Gambar 4.21a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 234 dan m/e 145 sebagai puncak dasar. Puncak pada m/e 91 yang ditandai lepasnya ion fragmen $C_7H_7^+$ merupakan ciri khas dari senyawa terpen. Munculnya puncak pada m/e 55 dan 41 dengan ion fragmen masing-masing $C_4H_7^+$, dan $C_3H_7^+$, merupakan ciri khas dari titik percabangan unit isopen.



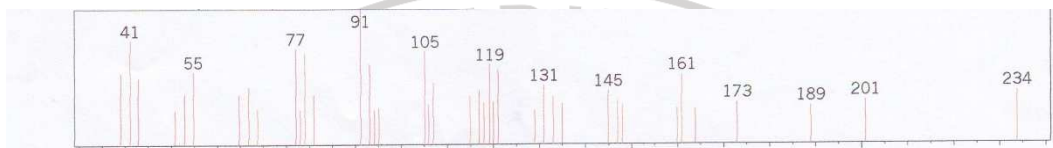
Gambar 4.21 Spektra massa puncak 6.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 6 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.21), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 6 merupakan senyawa trisiklo asam propanoat dengan struktur molekul:



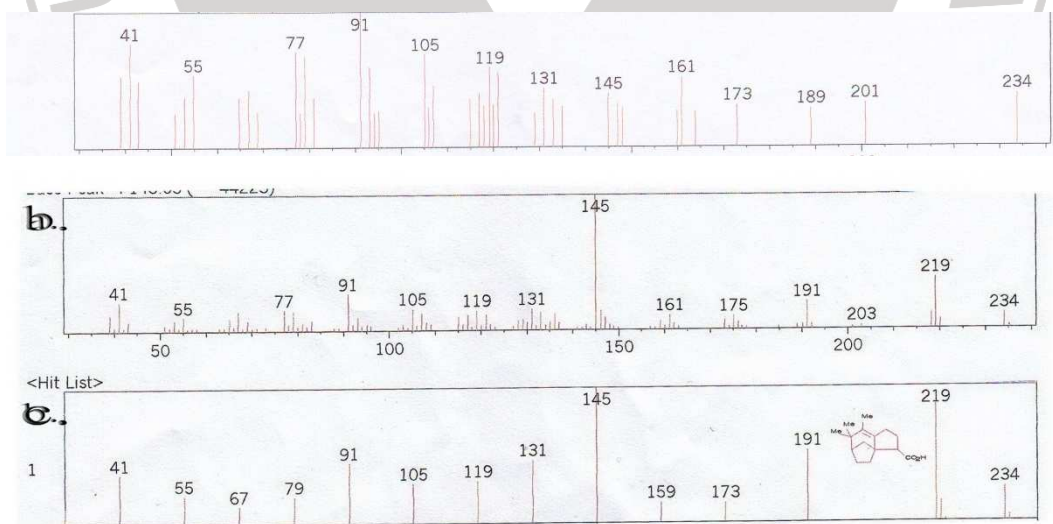
Gambar 4.22 Struktur molekul trisiklo asam propanoat.

Pada spektra massa puncak 7 (Gambar 4.23) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 234 dan m/e 91 sebagai puncak dasar yang ditandai lepasnya ion fragmen $C_7H_7^+$ merupakan ciri khas dari senyawa terpen. Munculnya puncak pada m/e 55 dan 41 dengan ion fragmen masing-masing $C_4H_7^+$, dan $C_3H_7^+$, merupakan ciri khas dari titik percabangan unit isopen.



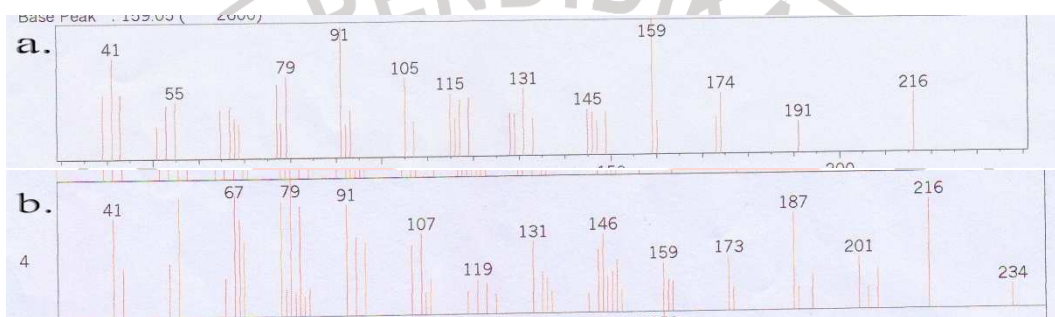
Gambar 4.23 Spektra massa puncak 7.

Dari pustaka yang ada, tidak ada senyawa yang memiliki pola fragmentasi dan ion molekul yang sama. Akan tetapi, pola fragmentasi spektra massa puncak 7 mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi pada spektra massa puncak 4 (Gambar 24). Sehingga bisa dikatakan senyawa pada puncak 7 merupakan isomer dari asam isokhusenik.



Gambar 4.24 Perbandingan spektra massa puncak 7 dan 4.

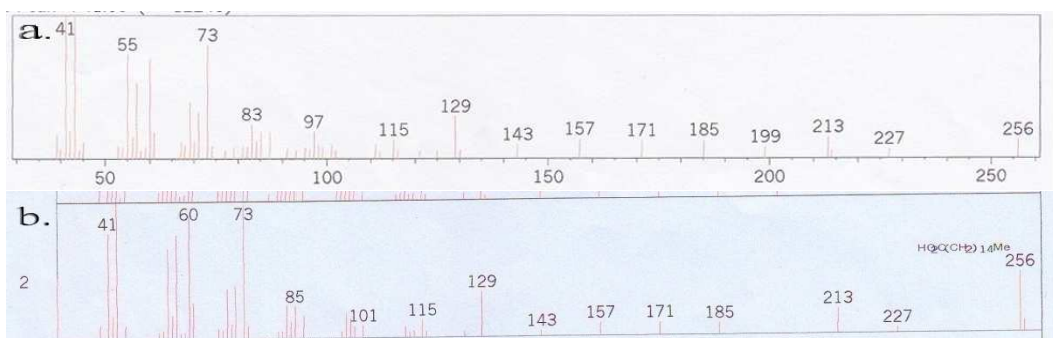
Pada spektra massa puncak 8 (Gambar 4.25a) terlihat bahwa puncak ion molekulnya terletak pada m/e 234 dan m/e 159 sebagai puncak dasar. Puncak pada m/e 91 yang ditandai lepasnya ion fragmen $C_7H_7^+$ merupakan ciri khas dari senyawa terpen. Munculnya puncak pada m/e 55 dan 41 dengan ion fragmen masing-masing $C_4H_7^+$, dan $C_3H_7^+$, merupakan ciri khas dari titik percabangan unit isopen.



Gambar 4.25 Spektra massa puncak 8.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 8 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.25), terlihat pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 8 merupakan senyawa oktahidronafto yang mempunyai massa molekul 234 dengan rumus molekul $C_{15}H_{22}O_2$.

Pada spektra massa puncak 9 (Gambar 4.26), terlihat bahwa senyawa 9 mempunyai puncak ion molekul dengan m/e sebesar 256. Sedangkan untuk kelimpahan puncak ion tertinggi terjadi ketika m/e sebesar 41. Intensitas puncak ion molekul yang tinggi pada $m/z = 41$ menunjukkan ion molekul tersebut paling stabil dan disebut sebagai puncak dasar.



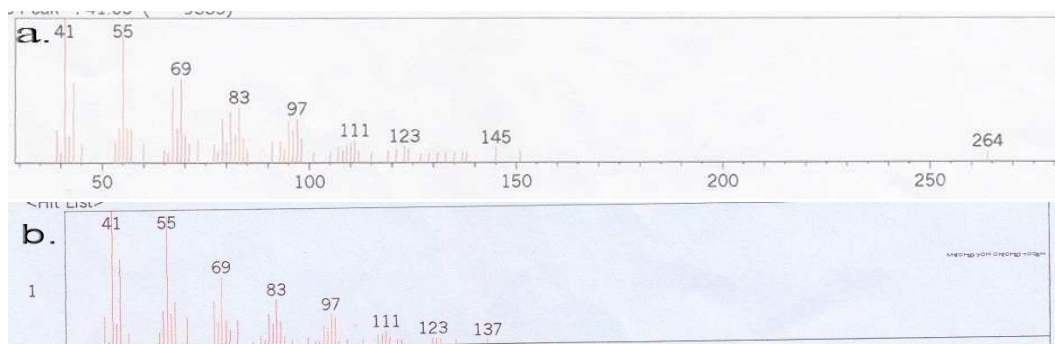
Gambar 4.26 Spektra massa puncak 9.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 9 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.26), terlihat adanya pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 9 merupakan senyawa asam heksadekanoat atau asam palmitat dengan struktur molekul:



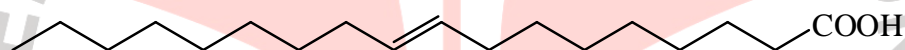
Gambar 4.27 Struktur molekul asam heksadekanoat atau asam palmitat.

Pada spektra massa puncak 10 (Gambar 4.28), terlihat bahwa senyawa 10 mempunyai puncak ion molekul dengan m/e sebesar 264. Sedangkan untuk kelimpahan puncak ion tertinggi terjadi ketika m/e sebesar 41. Intensitas puncak ion molekul yang tinggi pada $m/z = 41$ menunjukkan ion molekul tersebut paling stabil dan disebut sebagai puncak dasar.



Gambar 4.28 Spektra massa puncak 10.

Berdasarkan perbandingan spektra massa pada puncak 10 dengan pustaka yang ada (Gambar 4.28), terlihat adanya pola fragmentasi yang mirip. Maka dapat dikatakan bahwa spektra massa puncak 10 merupakan senyawa asam oktadekanoat atau asam oleat dengan struktur molekul:



Gambar 4.29 Struktur molekul asam oktadekanoat atau asam oleat.

Tabel 4.3 Komposisi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) berdasarkan data hasil GC-MS

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Kemungkinan Senyawa
1	8.422	1.80	1-bromodekana
2	13.083	1.74	Vanilin
3	13.659	1.38	Isoeugenol
4	18.489	35.25	Asam isokhusenik
5	18.858	26.09	Isomer asam isokhusenik
6	18.976	3.64	Trisiklo asam propanoat
7	19.666	1.99	Isomer asam isokhusenik
8	19.786	1.67	Oktahidronafto
9	20.241	11.18	Asam palmitat
10	22.145	15.25	Asam oleat

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi mengandung senyawa-senyawa asam, halida dan fenol dengan massa molekul relatif tertentu.

4.4 Uji Toksisitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar wangi

Penelitian mengenai uji aktivitas ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi sebagai biolarvasida dilakukan di Laboratorium Parasitologi

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Loka Litbang Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis, selama 2 minggu terhadap 3 (tiga) spesies larva nyamuk yakni *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. Selama melakukan penelitian tersebut, rata-rata suhu ruangan adalah 27-29⁰C dan untuk suhu air adalah 23-28⁰C dengan pH air berkisar 7. Kelembaban ruangan pada saat penelitian adalah sekitar 59-69%. Berdasarkan kondisi faktor lingkungan tersebut, maka dimungkinkan bahwa larva uji dapat hidup dan berkembang dengan baik, karena larva maupun nyamuk dewasa mampu hidup pada suhu udara 8-37⁰C atau pada kondisi ruangan yang bersuhu hangat dan lembab (Moehammadi, 2005), sehingga dapat dikatakan bahwa faktor-faktor tersebut tidak berpengaruh selama penelitian berlangsung.

Hal di atas dapat dibuktikan dengan hasil pengamatan pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian biolarvasida/ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi) yang menunjukkan persentase kematian rata-rata larva sebesar 8% pada kontrol air serta 4% pada kontrol air dan etanol 1%. Kematian larva < 20% tidak memerlukan perhitungan kematian terkoreksi yang menggunakan Rumus Abbot (Wahyuni, 2005).

Dalam pengujian ini digunakan kontrol air dan etanol 1% karena untuk melarutkan sampel yang berupa biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi adalah dengan menggunakan etanol, sedangkan apabila hanya menggunakan air saja ekstrak tidak larut sempurna. Kadar etanol yang digunakan dalam proses pelarutan didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Astuti (2008) yang menunjukkan bahwa etanol dapat mempengaruhi kematian

larva 24 jam setelah perlakuan adalah pada konsentrasi di atas 10%. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan etanol 1%, dan ini terbukti dari hasil penelitian bahwa etanol dengan kadar 1% tidak mempengaruhi kematian larva.

Perhitungan jumlah larva yang mati untuk masing-masing spesies di atas dilakukan 24 jam setelah perlakuan. Hasil pengujian ditampilkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil perhitungan uji biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*

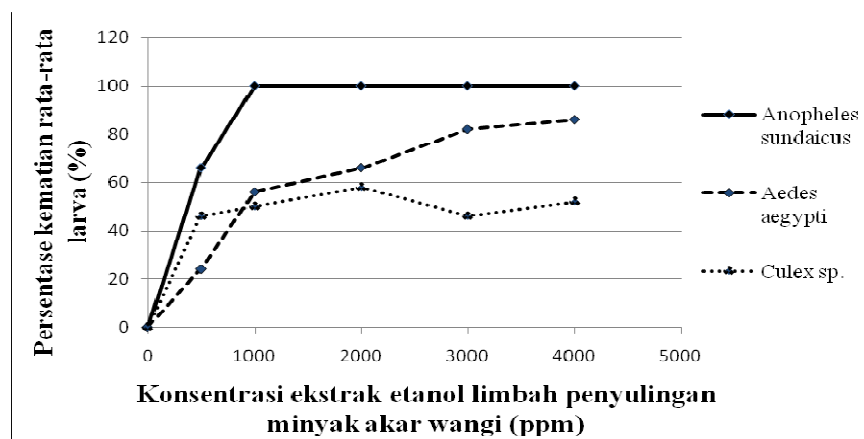
Jenis Larva	Konsentrasi Sampel (ppm)	Jumlah Larva Uji (ekor)	Rata-rata Kematian Larva (ekor)	Persentase Kematian Rata-rata (%)
<i>Aedes aegypti</i>	500	25	6	24
	1000	25	14	56
	2000	25	16.5	66
	3000	25	20.5	82
	4000	25	21.5	86
<i>Culex sp.</i>	500	25	11.5	46
	1000	25	12.5	50
	2000	25	14.5	58
	3000	25	11.5	46
	4000	25	13	52
<i>Anopheles sundaicus</i>	500	25	16.5	66
	1000	25	25	100
	2000	25	25	100
	3000	25	25	100
	4000	25	25	100

Berdasarkan Tabel 4.4, diketahui bahwa pada konsentrasi yang terendah yaitu 500 ppm dapat menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* sebesar 24% dalam waktu 24 jam setelah perlakuan, sedangkan pada konsentrasi yang paling tinggi yaitu 4000 ppm dapat membunuh larva *Aedes aegypti* sebesar 86% dari jumlah larva uji dalam waktu 24 jam setelah perlakuan.

Pada larva *Culex sp.* menunjukkan bahwa konsentrasi yang paling rendah (500 ppm) dapat menyebabkan kematian sebesar 46 % dalam waktu 24 jam setelah perlakuan. Sedangkan pada konsentrasi yang paling tinggi yaitu 4000 ppm dapat membunuh larva sebesar 52 % dari jumlah larva uji dalam waktu 24 jam setelah perlakuan. Data yang kurang signifikan dan tidak teratur ini disebabkan larva mengalami *knockdown* (pingsan) yang diawali dengan gejala *eksitasi* (kegelisahan). Larva akan mengalami gerakan *konvulsi*, dimana larva akan melakukan gerakan naik turun dari permukaan air secara cepat. Kemudian larva mengalami *paralisis*, yaitu larva tidak bisa berenang karena mengalami kelumpuhan. Lalu larva tidak bergerak sama sekali (mati) (Yeni, 2008).

Pada larva *Anopheles sundaicus* menunjukkan bahwa konsentrasi yang terendah yaitu 500 ppm sudah dapat menyebabkan kematian lebih dari 50%, yakni 66% dalam waktu 24 jam setelah perlakuan. Sedangkan pada konsentrasi yang 1000 sampai dengan 4000 ppm dapat membunuh larva sebesar 100% dari jumlah larva uji dalam waktu 24 jam setelah perlakuan, ini berarti bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi dengan rentang konsentrasi tersebut dapat membunuh seluruh populasi larva *Anopheles sundaicus* yang ada.

Adapun perbandingan presentase kematian rata-rata larva pada ketiga spesies tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.30.



Gambar 4.30 Grafik persentase kematian rata-rata larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus* setelah 24 jam perlakuan.

Dari Gambar 4.30, diketahui bahwa kenaikan konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi diikuti pula dengan persentase kematian rata-rata larva pada spesies *Aedes aegypti*. Hal ini menunjukkan hubungan yang linear di antara keduanya, yakni semakin besar konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi maka semakin besar pula persentase kematian rata-rata larva *Aedes aegypti*. Persentase kematian rata-rata larva mencapai 50 % sudah terjadi pada konsentrasi 1000 ppm. Dari hasil ini membuktikan bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi berpotensi sebagai biolarvasida pada spesies *Aedes aegypti*.

Pada larva *Culex sp.* kenaikan tingkat konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi tidak diikuti dengan kenaikan persentase kematian rata-rata larva. Hal ini menunjukkan hubungan yang tidak linear di antara keduanya, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi belum tentu menyebabkan naiknya jumlah kematian larva *Culex sp.* Hal ini selain disebabkan oleh adanya gejala *eksitasi*

juga disebabkan adanya kerentan larva *Culex sp.* terhadap ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi, karena setiap spesies larva memiliki respon yang berbeda terhadap sesuatu yang masuk ke dalam tubuh maupun lingkungan hidupnya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi dengan berbagai rentang konsentrasi tidak memberikan efek yang signifikan pada persentase kematian rata-rata larva *Culex sp.*, meskipun demikian ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi masih berpotensi sebagai biolarvasida pada spesies *Culex sp.*, hanya saja hasilnya kurang begitu efektif jika dibandingkan dengan larva *Aedes aegypti*.

Untuk larva *Anopheles sunndaicus* diketahui bahwa kenaikan tingkat konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi diikuti pula dengan kenaikan persentase kematian rata-rata larva. Akan tetapi, karena pada konsentrasi 1000 ppm ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi sudah menyebabkan kematian larva sebanyak 100%, maka pada kenaikan konsentrasi selanjutnya tidak mengalami perubahan (konstan) terhadap persentase kematian rata-rata larva. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang linear di antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi dengan kenaikan persentase kematian rata-rata larva, yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi maka semakin besar pula kematian larva *Anopheles sunndaicus* dan mengalami keadaan konstan setelah konsentrasi 1000 ppm, karena sudah menyebabkan kematian larva sebanyak 100% dari populasi yang ada. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak

etanol limbah penyulingan minyak akar wangi sangat berpotensi sebagai biolarvasida pada spesies larva *Anopheles sunaicus*.

Hasil pengujian ulangan berbagai tingkat konsentrasi dilakukan berdasarkan standar WHO dengan tujuan mencari nilai LC (*Lethal Concentration*) 50, LC₉₀, LC₉₅, dan LC₉₉, sebagai pembanding digunakan minyak atsiri akar wangi (*Vetiver oil*). Maksudnya adalah konsentrasi sampel yang dapat mengakibatkan larva mati sebesar 50, 90, 95, dan 99%. Tidak diperkenankan sampai membunuh sebesar 100% karena dikhawatirkan akan mengganggu siklus hidup atau rantai makanan makhluk hidup. Nilai LC₅₀, LC₉₀, LC₉₅, dan LC₉₉ dihitung dengan metode analisis probit (*Finney Method*) dengan menggunakan *software* POLO-PC (Priyono, 2007).

Dari hasil penelitian dan perhitungan tersebut di atas, didapatkan nilai LC₅₀, LC₉₀, LC₉₅, dan LC₉₉ pada ekstrak etanol limbah penyulingan akar wangi dengan rentang konsentrasi 500, 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm terhadap beberapa spesies larva yakni *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sunaicus* seperti terlihat pada Tabel 4.5.

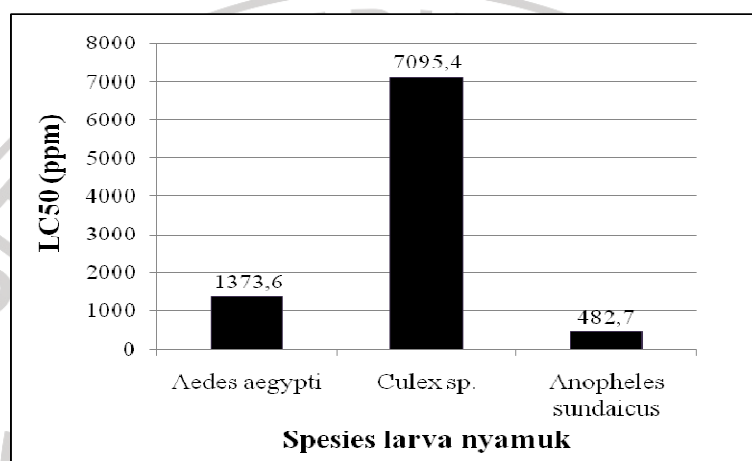
Tabel 4.5 Nilai LC pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*

Jenis Larva	Jenis LC	Nilai LC (ppm)	Batas Bawah (ppm)	Batas Atas (ppm)
<i>Aedes aegypti</i>	50	1373,6	1011,5	1752,1
	90	4508,7	3229,7	8362,3
	95	6315,0	4213,9	13872,7
	99	11881,0	6838,1	36390,0
<i>Culex sp.</i>	50	7095,4	-	-
	90	-	-	-
	95	-	-	-
	99	-	-	-
<i>Anopheles sundaicus</i>	50	482,7	-	-
	90	541,7	-	-
	95	559,7	-	-
	99	595,0	-	-

Dari Tabel 4.5, potensi besar ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi sebagai biolarvasida yang paling signifikan adalah pada larva *Anopheles sundaicus*. Ekstrak etanol limbah tersebut dapat menyebabkan kematian sebesar 66% terhadap larva *Anopheles sundaicus* selama 24 jam untuk konsentrasi 500 ppm dan menyebabkan kematian 100% untuk konsentrasi 1000 ppm dengan nilai LC₅₀ (konsentrasi yang menyebabkan 50% larva mati), LC₉₀, LC₉₅, dan LC₉₉ berturut-turut sebesar 482,7; 541,7; 559,7; dan 595,0 ppm. Pada larva *Aedes aegypti* memberikan nilai LC₅₀ LC₉₀, LC₉₅, dan LC₉₉ berturut-turut sebesar 1373,6; 4508,7; 6315,0; dan 11881,0 ppm selama pengamatan 24 jam

setelah perlakuan. Sedangkan pada larva *Culex sp.* memberikan nilai LC_{50} sebesar 7095,4 ppm.

Perbandingan nilai LC_{50} ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) untuk larva *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus* setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.31.



Gambar 4.31 Nilai LC_{50} ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) untuk larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus* setelah 24 jam perlakuan.

Dari hasil penelitian dan perhitungan dengan analisis probit, didapatkan nilai LC_{50} , LC_{90} , LC_{95} , dan LC_{99} pada minyak atsiri akar wangi (*Vetiver oil*) dengan rentang konsentrasi 1, 10, 50, 100, 200 dan 500 ppm terhadap spesies larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus* seperti terlihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Nilai LC pada minyak atsiri akar wangi (*Vetiver oil*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*

Jenis Larva	Jenis LC	Nilai LC (ppm)	Batas Bawah (ppm)	Batas Atas (ppm)
<i>Aedes aegypti</i>	50	2,9	0,8	6,7
	90	22,4	9,4	133,6
	95	39,9	15,2	391,7
	99	118,6	34,8	3204,7
<i>Culex sp.</i>	50	0,3	0,0001	1,5
	90	12,1	2,6	115,7
	95	36,6	9,6	1966,5
	99	290,3	47,8	-
<i>Anopheles sundaicus</i>	50	87,9	-	-
	90	13551,0	-	-
	95	56521,0	-	-
	99	-	-	-

Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa limbah penyulingan akar wangi dapat berpotensi sebagai biolarvasida terhadap beberapa spesies nyamuk di atas yang ketiga spesies tersebut merupakan penyebab penyakit tropis, yaitu *Aedes aegypti* sebagai vektor penyakit demam berdarah dan chikungunya, *Anopheles sundaicus* penyebab malaria dan filaria, dan *Culex sp.* sebagai vektor yang menularkan penyakit filaria dan kaki gajah. Meskipun hasilnya sangat berbeda jauh dengan minyak atsiri akar wangi (*Vetiver oil*), karena penggunaan *Vetiver oil* sebagai minyak atsiri untuk digunakan dalam produk minyak wangi, kosmetik, obat-obatan maupun makanan yang sudah diekspor ke berbagai negara di dunia kalah bersaing jika dibandingkan untuk digunakan sebagai biolarvasida. Sehingga masih sangat mungkin untuk menggunakan limbah penyulingan akar

wangi sebagai biolarvasida meskipun hasilnya kurang begitu efektif untuk spesies tertentu. Karena hal ini dapat menjadi solusi dalam mengatasi masalah yang dihadapi oleh para petani penyuling akar wangi belakangan ini terhadap limbah sisa hasil penyulingan minyak akar wangi.

Apabila dibandingkan dengan insektisida yang biasa digunakan yang berasal dari insektisida organik sintetis, yaitu permetrin untuk pengendalian nyamuk *Aedes sp.*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sp.* serta temefos ($C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$) yang dikenal dengan nama dagang *Abate* 1% untuk pengendalian larva nyamuk *Aedes aegypti* hasilnya memang sangat jauh berbeda. Menurut Astuti (2008), temefos dengan konsentrasi 1, 10, 100, dan 1000 ppm dapat menyebabkan kematian rata-rata larva sebesar 100% selama 2-4 jam pengamatan. Akan tetapi, keduanya merupakan insektisida sintetis yang terkadang menimbulkan dampak negatif bagi manusia dan lingkungan.

Permetrin merupakan insektisida golongan piretroid sintetis, bersifat foto stabil dan neuro-poison terhadap serangga, tidak toksik bagi organism lain termasuk mamalia. Akan tetapi, menyebabkan iritasi ringan pada kulit, larut dalam air dan bersifat racun perut atau racun kontak. Daya residu insektisida ini kurang dari 6 bulan. Sedangkan temefos tergolong dalam organofosfat atau fosfor organik yang mempunyai daya residu lebih kurang 1 bulan (Gandahusada, 2003). Larvasida ini terbukti efektif terhadap larva *Aedes aegypti* dan daya racunnya rendah terhadap mamalia (Astuti, 2008).

Untuk mengetahui waktu kontak ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi untuk membunuh larva terhadap spesies *Aedes aegypti*, *Culex*

sp., dan *Anopheles sunaicus* adalah dengan menggunakan LT (*Lethal Time*)₅₀, LT₉₀, dan LT₉₅. Yaitu waktu yang dibutuhkan sampel dapat membunuh larva sebesar 50, 90, dan 95%. Dalam hal ini, hanya dicari *Lethal Time* pada konsentrasi sampel paling tinggi, yaitu 4000 ppm untuk masing-masing spesies larva tersebut.

Adapun hasil perhitungan untuk mengetahui waktu kontak dari ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi terhadap ketiga larva di atas pada konsentrasi tertinggi (4000 ppm) dapat dilihat pada Tabel 4.7.

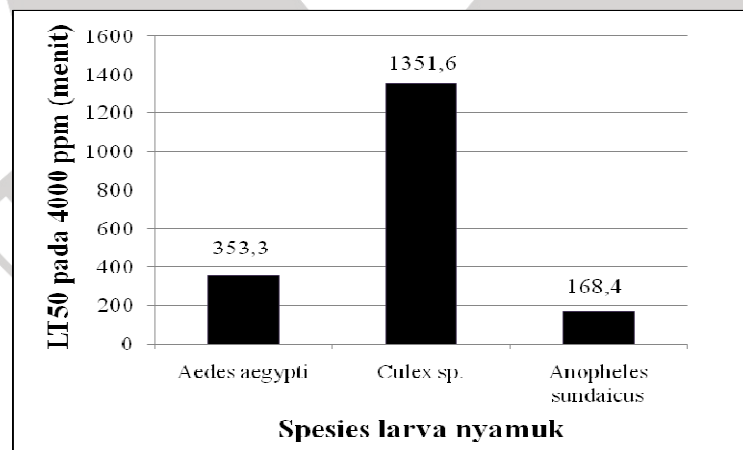
Tabel 4.7 Nilai LT pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sunaicus* untuk konsentrasi 4000 ppm

Jenis Larva	Jenis LT	Nilai LT (menit)	Batas Bawah (menit)	Batas Atas (menit)
<i>Aedes aegypti</i>	50	353.3	262.6	504.6
	90	2746.5	1452.8	9598.0
	95	4912.0	2262.0	23076.6
<i>Culex sp.</i>	50	1351.6	862.6	3284.3
	90	9686.0	3785.580	78018.8
	95	16928.2	5692.5	193700.5
<i>Anopheles sunaicus</i>	50	168.4	139.2	197.8
	90	430.5	347.1	599.6
	95	561.8	433.6607	851.6

Berdasarkan Tabel 4.7, dapat diketahui bahwa respon berbagai spesies larva terhadap ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi berbeda-beda. Hasil yang signifikan terlihat pada larva *Anopheles sunaicus*. Hal ini menunjukkan bahwa larva *Anopheles sunaicus* lebih sensitif terhadap ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi dibandingkan dengan kedua

spesies larva yang lain, dengan kata lain kedua spesies larva tersebut lebih *resisten* (tahan) terhadap sampel yang berupa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi. Untuk konsentrasi tertinggi pada larva *Anopheles sunndaicus*, ekstrak sampel dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dalam waktu 168,4 menit atau sekitar 3 jam setelah perlakuan dengan kisaran batas bawah 139,2 menit dan batas atas 197,8 menit. Sedangkan untuk larva *Culex sp.* dan *Aedes aegypti*, ekstrak sampel dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dalam waktu 1351,6 menit atau sekitar 23 jam dan 353,3 menit atau sekitar 6 jam setelah perlakuan dengan kisaran batas bawah 862,6 dan 262,6 menit serta batas atas 3284,3 dan 504,6 menit secara berturut-turut.

Perbandingan nilai LT_{50} untuk larva *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sunndaicus* pada konsentrasi 4000 ppm setelah 24 jam perlakuan disajikan pada Gambar 4.32.



Gambar 4.32 Nilai LT_{50} ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) untuk larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sunndaicus* setelah 24 jam perlakuan pada konsentrasi 4000 ppm.

Mortalitas larva uji disebabkan adanya kandungan senyawa kimia tumbuhan yang berupa terpenoid, flavonoid dan saponin yang terkandung pada ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa kimia pertahanan tumbuhan yang termasuk ke dalam metabolit sekunder atau aleokimia yang dihasilkan pada jaringan tumbuhan dan dapat bersifat toksik serta dapat juga berfungsi sebagai racun perut dan pernafasan (Yeni, 2008). Menurut Nursal (2005), apabila larva memakan makanan yang mengandung senyawa aleokimia toksik, maka larva tersebut tidak mencapai berat kritis menjadi pupa, hal ini disebabkan larva menurunkan laju metabolisme dan sekresi enzim pencernaan, sehingga energi untuk pertumbuhan berkurang.

Salah satu kelompok terbesar dari terpenoid adalah seskuiterpen yang merupakan penyusun minyak atsiri. Senyawa yang termasuk seskuiterpen merupakan senyawa sejenis hormon *juvenile* yang berguna sebagai insektisida. Karena hormon *juvenile* mempunyai fungsi mencegah metamorfosa larva dan dalam perkembangan serangga menjadi dewasa (Sastrohamidjojo, 1996). Sehingga pertumbuhan serangga akan terganggu karena dipengaruhi oleh hormon tersebut (Gandahusada, dkk., 2003).

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak limbah penyulingan minyak akar wangi bersifat toksik terhadap larva uji. Diduga flavonoid masuk ke dalam sistem pernafasan serangga melewati spirakel yang terdapat di permukaan tubuh serangga, kemudian senyawa ini mengakibatkan kerusakan pada spirakel dan akhirnya serangga tidak dapat bernafas (Yeni, 2008).

Saponin juga merupakan salah satu senyawa toksik yang terkandung dalam ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi. Senyawa ini dapat menyebabkan terjadinya haemolisis pada sel-sel darah merah sehingga berpengaruh terhadap sistem peredaran (hemolimfa) (Yeni, 2008). Aktivitas saponin dapat mengikat sterol bebas dalam pencernaan makanan, dimana sterol berperan sebagai prekursor hormon ecdison, sehingga dengan menurunnya jumlah sterol bebas akan mengganggu proses pergantian kulit pada serangga (Muhaeni, 2007). Akibat dari pengaruh kerja hormon tersebut, perkembangan dan pematangan larva terhambat, sehingga pembentukan pupa pun akan terhambat (Gandahusada, dkk., 2003). Selain itu, yang menyebabkan senyawa ini bersifat toksik adalah karena dapat merendahkan tegangan permukaan (*surface tension*).

Berdasarkan hasil pengamatan secara organoleptik bahwa kematian ketiga larva tersebut di atas setelah dikontakkan dengan ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi rata-rata ditandai dengan gejala keracunan, yaitu larva mengalami kejang-kejang. Tarumingkeng (1992) menyatakan bahwa gejala yang muncul apabila serangga mengalami keracunan melalui 4 (empat) fase, yaitu *eksitasi* (perangsangan), *konvulsi* (kekejangan), *paralisis* (kelumpuhan), dan diakhiri dengan kematian.

Adapun mekanisme masuknya racun ke dalam tubuh larva melalui kulit, celah/lubang alami pada tubuh atau langsung mengenai mulut serangga. Larva akan mati apabila bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tertentu. Kebanyakan racun kontak juga berperan sebagai racun perut. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi

(*Vetiveria zizanoides*) terbukti bersifat toksik yang mampu mengakibatkan kematian pada ketiga larva, yaitu *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus* (Wardoyo, 2008).

Mortalitas yang cukup tinggi terutama pada larva *Anopheles sundaicus* dan *Aedes aegypti* diduga juga tidak hanya dikarenakan oleh kandungan senyawa toksik yang terkandung dalam ekstrak, tetapi dapat juga disebabkan karena tingginya nilai konsentrasi ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi yang diberikan pada larva. Detoksifikasi melalui proses enzimatik merupakan salah satu cara serangga untuk dapat mempertahankan diri terhadap reaksi senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuhnya. Di dalam tubuh serangga detoksifikasi terjadi melalui dua tahap, yaitu tahap oksidasi dan hidrolisis dari senyawa racun yang bersifat nonpolar menjadi senyawa polar dengan bantuan enzim. Tingginya konsentrasi ekstrak yang digunakan akan menyebabkan enzim-enzim yang diperlukan untuk proses detoksifikasi menjadi rusak dan terdenaturasi (Salempang, 2003).

Hasil di atas dapat dijadikan sebagai acuan bahwa limbah penyulingan minyak akar wangi dapat dimanfaatkan sebagai biolarvasida terutama terhadap nyamuk yang selama ini menjadi vektor beberapa penyakit tropis yang sering berjangkit di Indonesia. Sehingga limbah penyulingan minyak akar wangi dapat digunakan sebagai bioinsektisida terhadap spesies nyamuk yang termasuk ke dalam kelas insekta. Hal ini merupakan salah satu alternatif solusi untuk penanganan limbah yang lebih bijaksana. Selain dapat mereduksi dampak negatif yang ditimbulkan dari pembakaran, hal tersebut akan meningkatkan nilai ekonomi

dan memberikan penghasilan tambahan bagi agroindustri pengolahan minyak akar wangi. Manfaat lain dari hasil ini adalah menemukan obat pembasmi serangga (nyamuk) alamiah (bioinsektisida) yang murah dan ramah lingkungan, selain itu dengan digunakannya bioinsektisida maka dampak negatif yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik dapat direduksi.

