

UJI AKTIVITAS INSEKTISIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI KLOOROFORM, DAN FRAKSI AIR DARI BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt) TERHADAP *Anopheles aconitus*

Atalia Tamo Ina Bulu¹, Titik Sunarni¹, Jason Merari P¹
Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi¹
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

ABSTRAK

Nyamuk *Anopheles aconitus* merupakan salah satu vektor yang menularkan penyakit malaria. Salah satu cara mengendalikan populasi vektor adalah menggunakan insektisida. Tanaman obat dengan aktivitas insektisida dapat digunakan untuk mengendalikan populasi vektor malaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) mempunyai aktivitas insektisida yang dinyatakan dengan KC_{50} dan LC_{50} .

Ekstraksi menggunakan metode maserasi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dibuat menjadi 4 seri konsentrasi yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Pengujian dilakukan terhadap 20 ekor nyamuk *Anopheles aconitus*. Pengamatan dilakukan selama 20 menit untuk melihat *knockdown* dan 24 jam untuk melihat kematian nyamuk lalu dihitung KC_{50} dan LC_{50} menggunakan analisa probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air memiliki aktivitas insektisida. Fraksi *n*-heksan dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) memiliki aktivitas yang paling tinggi. Nilai KC_{50} berturut-turut ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air adalah 527,16 ppm; 326,72 ppm; 390,01 ppm; 525,19 ppm dan nilai LC_{50} berturut-turut adalah 489,56 ppm; 142,66 ppm; 281,58 ppm; 364,59 ppm terhadap nyamuk *Anopheles aconitus*.

Kata Kunci : Biji pala, ekstraksi, fraksinasi, *Anopheles aconitus*, KC_{50} , LC_{50}

PENDAHULUAN

Nyamuk *Anopheles aconitus* merupakan salah satu jenis vektor dari penyakit malaria yang sudah meluas hampir di seluruh propinsi di Indonesia. Penularan malaria dipengaruhi beberapa faktor yaitu faktor parasit (*plasmodium*), faktor manusia (*host*), faktor nyamuk *Anopheles* (vektor) dan faktor lingkungan (Soejoeti 1996).

Kasus klinis malaria yang terjadi di Indonesia sebanyak 15 juta kasus tiap tahunnya. Kejadian tersebut disebabkan adanya permasalahan-permasalahan teknis seperti pembangunan (usaha masyarakat) yang tidak berwawasan kesehatan lingkungan, mobilitas penduduk dari dan ke daerah endemis malaria, adanya resistensi nyamuk vektor terhadap insektisida yang digunakan dan juga resistensi obat malaria yang makin meluas, perhatian masyarakat termasuk masyarakat kesehatan terhadap malaria berkurang juga termasuk sumber daya yang menurun dan lain-lain (Depkes 2000).

Pengendalian nyamuk secara tidak langsung dapat dilakukan dengan menggunakan insektisida, yaitu penyemprotan dalam rumah dan disekitar rumah untuk membunuh nyamuk dewasa atau membunuh jentik-jentik nyamuk dan larvasida (Sembel 2009).

Kebanyakan masyarakat saat ini takut untuk menggunakan insektisida yang dikeluarkan oleh pabrik atau industri tertentu. Kandungan kimia yang terkandung didalam sediaan insektisida tersebut menjadi alasan mengapa masyarakat mencari alternatif lain untuk membuat insektisida dengan menggunakan bahan alami yang lebih aman (Depkes 1985).

Di Indonesia terdapat berbagai jenis tanaman penghasil insektisida nabati, namun sampai saat ini pemanfaatannya belum dilakukan dengan maksimal. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jung *et al.* (2007) fraksi *n*-heksan dari ekstrak biji pala yang dianalisis dengan kromatografi gas dan kromatografi gas-spektrometri massa diperoleh 13 senyawa aktif. Aktivitas

insektisida 13 senyawa tersebut kemudian diujikan terhadap kecoa betina dewasa menggunakan racun kontak kertas filter dan fase uap toksisitas *bioassay*. Aktivitas insektisida senyawa ini sebanding dengan permethrin (0,05 mg/cm²).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas insektisida ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap nyamuk *Anopheles aconitus*.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Bahan dan Pembuatan Serbuk

Biji pala kering diperoleh dari desa Hargomulyo, kecamatan Merbau Mataram, kabupaten Lampung Selatan, propinsi Lampung. Biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) diserbuk dengan cara ditumbuk sampai halus dan diayak dengan menggunakan pengayak no. 40 sampai didapatkan serbuk biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang diinginkan.

Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Biji Pala

Pembuatan ekstrak etanol biji pala dilakukan dengan metode maserasi dengan cara: diambil serbuk biji pala, di maserasi dengan etanol 96% selama 5 hari selanjutnya disaring dengan penyaring vakum. Ekstrak cair dikumpulkan, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtratnya diuapkan dengan evaporator pada suhu 50°C.

Ekstrak etanol ditambahkan 100 ml aqua destilata dan dipartisi 3 kali dengan *n*-heksan, kloroform, dan air dengan volume untuk tiap kali partisi adalah 100 ml menggunakan corong pisah. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dikumpulkan dan dipisahkan dengan oven pada suhu 50°C. Filtrat *n*-heksan, kloroform, dan air yang pekat selanjutnya disebut fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air.

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

Larutan uji yang terdiri dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) dibuat dengan cara membuat larutan stok dari 500 mg ekstrak atau fraksi ditambah dimetyl sulfoksida 10,0 ml

kemudian ditambahkan air hingga 100,0 ml dalam labu takar. Dengan begitu didapatkan konsentrasi larutan stok 5000 ppm dan konsentrasi DMSO dalam larutan stok adalah 10%. Kemudian dari larutan stok diambil sejumlah volume tertentu untuk membuat 4 seri konsentrasi. Volume yang diambil adalah 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, dan 4,0 ml dengan menggunakan pipet volume. Masing-masing volume pengambilan dimasukkan dalam labu takar dan ditambahkan aqua destilata sebanyak 100,0 ml lalu didapatkan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm dengan konsentrasi DMSO dalam larutan uji masing-masing adalah 0,05%, 0,1%, 0,2% dan 0,4%.

Pembuatan Seri Konsentrasi Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Pembuatan seri konsentrasi kontrol positif Baygon[®] adalah dengan cara membuat larutan stok 0,5 gram Baygon[®] cair ditambah dimetyl sulfoksida 10,0 ml kemudian ditambahkan air sampai 100,0 ml dalam labu takar. Dengan begitu didapatkan konsentrasi larutan stok Baygon[®] 5.000 ppm dan konsentrasi DMSO dalam larutan stok adalah 10%. Kemudian dari larutan stok diambil sejumlah volume tertentu untuk membuat 4 seri konsentrasi. Volume yang diambil adalah 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml dan 4,0 ml dengan menggunakan pipet volume, masing-masing volume pengambilan dimasukkan dalam labu takar dan ditambahkan aqua destilata sebanyak 100,0 ml lalu didapatkan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm sehingga konsentrasi DMSO dalam larutan uji masing-masing adalah 0,05%, 0,1%, 0,2% dan 0,4%. Pembuatan kontrol negatif DMSO adalah DMSO sebanyak 10 ml ditambahkan air sampai 100 ml dalam labu takar sehingga didapatkan larutan kontrol negatif DMSO 10%. Kemudian dari larutan stok diambil sejumlah volume tertentu untuk membuat 4 seri konsentrasi. Volume yang diambil adalah 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 4,0 ml sehingga didapatkan konsentarsi DMSO masing 0,05%, 0,1%, 0,2%, dan 0,4%.

Uji Aktivitas Insektisida

Disiapkan larutan uji yang terdiri dari: ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari biji pala,

Baygon® (kontrol positif) dan DMSO (kontrol negatif) yang diencerkan menjadi 4 seri pengenceran. Dimasukkan 20 ekor nyamuk *Anopheles aconitus* kedalam *glass chamber*, kemudian disemprotkan larutan uji ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, fraksi air, kontrol positif, dan kontrol negatif sesuai hasil perhitungan jumlah semprotan. Diamati setelah 20 menit, dan dicatat nyamuk yang *knockdown* dan yang mati setiap periode waktu yang telah ditentukan, kemudian nyamuk diambil dengan menggunakan *aspirator* dan ditempatkan dalam tempat *holding* nyamuk selama 24 jam lalu dihitung jumlah nyamuk yang mati. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi untuk masing-masing larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Perhitungan kemudian menggunakan analisis probit dengan KC_{50} dan LC_{50} (Yap 2001)

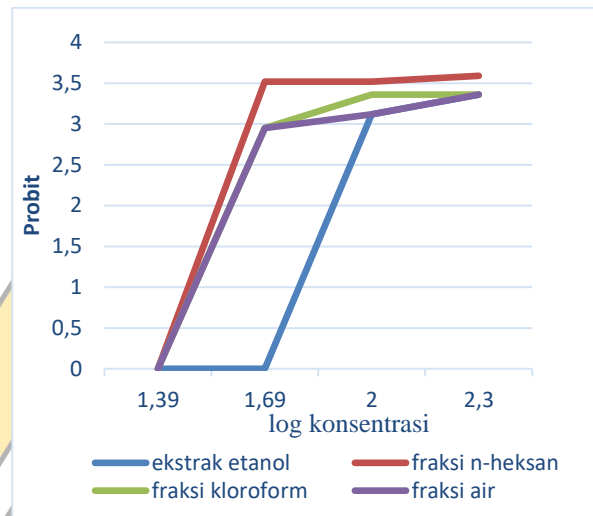
Analisis Data

KC_{50} dan LC_{50} dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) ditetapkan dengan metode analisa probit. Persentase *knockdown* (pingsan) dan persentase kematian nyamuk *Anopheles aconitus* tersebut kemudian dicari nilai probitnya dengan menggunakan tabel konversi. Setelah diketahui nilai probit, untuk tiap konsentrasi dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) yang merupakan hubungan linier dengan persamaan garis lurus $y = a + bx$.

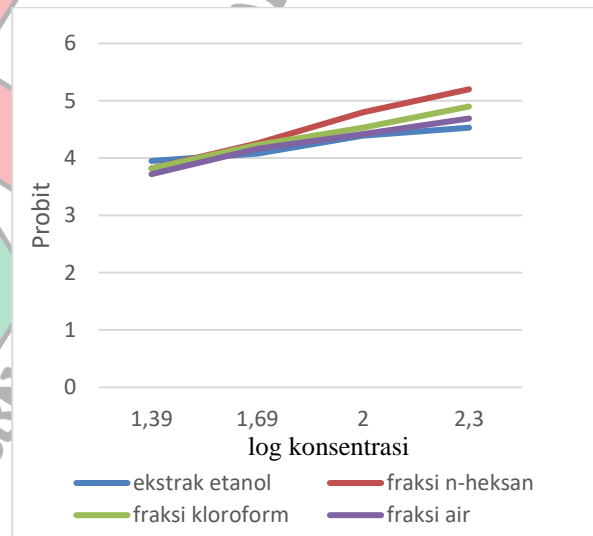
Harga KC_{50} kemudian dihitung dari persamaan $y = a + bx$ dengan memasukkan nilai probit 5 dari 50% *knockdown* hewan uji sebagai y, maka akan diperoleh antilog x sebagai harga KC_{50} . Harga LC_{50} dihitung dari persamaan $y = a + bx$, dengan memasukkan nilai probit 5 dari 50%

kematian hewan uji sebagai y, maka akan didapatkan antilog x sebagai harga LC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Grafik hubungan log konsentrasi larutan uji dengan probit knockdown nyamuk *Anopheles aconitus*



Gambar 2. Grafik hubungan log konsentrasi larutan uji dengan probit kematian nyamuk *Anopheles aconitus*

Tabel 1. Persen rata-rata knockdown dan probit dengan konsentrasi larutan uji

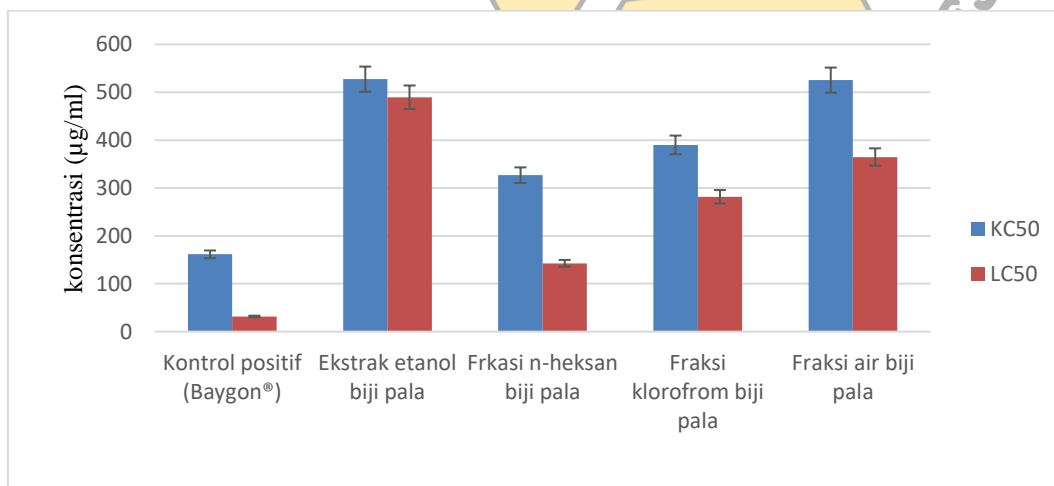
Konsentrasi	Ekstrak etanol		Fraksi <i>n</i> -Heksan		Fraksi kloroform		Fraksi air	
	% knockdown	probit	% knockdown	probit	% knockdown	probit	% knockdown	probit
25	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	6,67	3,52	1,67	2,95	1,67	2,95
100	3,33	3,12	6,67	3,52	5,00	3,36	3,33	3,12
200	5,00	3,36	8,33	3,59	5,00	3,36	5,00	3,36

Tabel 2. Persen rata-rata kematian dan probit dengan konsentrasi larutan uji

Konsentras i	Ekstrak etanol		Fraksi <i>n</i> -heksan		Fraksi kloroform		Fraksi air	
	% kematian	Probit	% kematian	Probit	% kematian	Probit	% kematian	Probit
25	8,33	3,59	11,67	3,82	11,67	3,82	10,00	3,72
50	18,33	4,08	23,33	4,26	21,67	4,23	20,00	4,16
100	26,67	4,39	41,67	4,80	31,67	4,53	28,33	4,42
200	31,67	4,53	58,33	5,20	46,67	4,90	38,33	4,69

Tabel 3. Nilai rata-rata KC_{50} dan LC_{50} biji pala terhadap nyamuk *Anopheles aconitu*

Kelompok perlakuan	$KC_{50} \pm SD$ (ppm)	$LC_{50} \pm SD$ (ppm)
Kontrol positif (Baygon®)	161,45 ± 38,67	31,75 ± 5,61
Ekstrak etanol biji pala	527,16 ± 231,41	489,56 ± 62,88
Fraksi <i>n</i> -heksan biji pala	326,72 ± 55,63	142,66 ± 13,74
Fraksi kloroform biji pala	390,01 ± 1,58	281,58 ± 32,00
Fraksi air biji pala	525,19 ± 233,08	364,59 ± 108,41



Gambar 3. Rata-rata KC_{50} dan LC_{50} kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan

Semakin besar konsentrasi larutan uji (ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air) maka jumlah *knockdown* dan kematian nyamuk semakin besar. Jadi, semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin besar juga % *knockdown* dan % kematian dari nyamuk *Anopheles aconitus*. Hasil persentase ini kemudian dilihat nilai probitnya dengan menggunakan tabel probit.

Hubungan antara KC_{50} dan LC_{50} dengan konsentrasi larutan uji menunjukkan bahwa semakin kecil KC_{50} dan LC_{50} maka semakin kecil konsentrasi yang dibutuhkan untuk menyebabkan *knockdown* dan kematian nyamuk *Anopheles aconitus* sehingga semakin bagus aktivitas insektisida larutan uji tersebut.

Hasil rata-rata KC_{50} fraksi *n*-heksan yaitu 327,72 ppm menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan mempunyai aktivitas

insektisida yang paling besar dari pada fraksi kloroform yang mempunyai hasil rata-rata KC_{50} yaitu 390,01 ppm, fraksi air dengan hasil rata-rata KC_{50} yaitu 525,19 ppm, dan ekstrak etanol dengan hasil rata-rata KC_{50} yaitu 527,16 ppm.

Hasil rata-rata LC_{50} Fraksi *n*-heksan yaitu 142,66 ppm menunjukkan fraksi *n*-heksan mempunyai aktivitas insektisida yang paling besar dari fraksi kloroform yang mempunyai hasil rata – rata LC_{50} yaitu 281,58 ppm, fraksi air dengan hasil rata-rata LC_{50} yaitu 364,58 ppm dan ekstrak etanol dengan hasil rata-rata LC_{50} 489,56 ppm.

Jika dibandingkan nilai rata-rata KC_{50} ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air berturut-turut dari yang paling kecil adalah fraksi *n*-heksan yaitu 327,72 ppm, fraksi kloroform yaitu 390,01 ppm, ekstrak etanol yaitu 527,16 ppm dan fraksi air yaitu 525,19 ppm

sehingga aktivitas insektisida yang paling baik berturut-turut adalah fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, fraksi air dan ekstrak etanol.

Jika dibandingkan nilai rata-rata LC₅₀ ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air berturut-turut dari yang paling kecil adalah fraksi *n*-heksan yaitu 142,66 ppm, fraksi kloroform yaitu 281,58 ppm, fraksi air yaitu 364,58 ppm dan ekstrak etanol yaitu 489,56 ppm sehingga aktivitas insektisida yang paling baik berturut-turut adalah fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, fraksi air dan ekstrak etanol.

Fraksi *n*-heksan banyak mengandung senyawa terpenoid seperti minyak atsiri. Dalam penelitian ini hasil pengujian fraksi *n*-heksan mempunyai aktivitas insektisida yang lebih efektif, dikarenakan adanya senyawa miristisin dalam biji pala yang beraktivitas sebagai insektisida yang terlarut yaitu minyak atsiri. Mekanisme minyak atsiri sebagai racun pernapasan yaitu insektisida masuk melalui sistem pernapasan (spirakel) dan melalui permukaan badan serangga.

Fraksi kloroform mengandung senyawa flavonoid dan minyak atsiri yang merupakan senyawa kimia yang dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan atau sebagai racun pernapasan. Minyak atsiri mempunyai cara kerja yaitu dengan masuk ke dalam tubuh nyamuk melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan gangguan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan nyamuk tidak bisa bernapas dan akhirnya mati (Wardani *et al*, 2010). Miristisin yang terkandung dalam minyak atsiri akan mengganggu sistem syaraf sehingga mengakibatkan nyamuk pingsan atau mati.

Menurut Agnetha (2005), flavonoid diduga mengganggu metabolisme energi di dalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron. Adanya hambatan pada sistem pengangkutan elektron akan menghalangi produksi ATP dan menyebabkan penurunan pemakaian oksigen oleh mitokondria.

Saponin dan alkaloid merupakan *stomach poisoning* atau racun perut. Bila senyawa tersebut masuk dalam tubuh nyamuk maka alat pencernaannya akan menjadi terganggu yang akan membuat nyamuk berhenti makan dan akhirnya mati. Mekanisme alkaloid yaitu mampu

menghambat pertumbuhan serangga, terutama tiga hormon utama dalam serangga yaitu hormon otak (*brain hormone*), hormon edikson, dan hormon pertumbuhan (*juvenile hormone*). Tidak berkembangnya hormon tersebut dapat menyebabkan kegagalan metamorphosis (Wardani *et al*, 2010).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) mempunyai aktivitas sebagai insektisida terhadap nyamuk *Anopheles aconitus* dengan nilai KC₅₀ sebesar 527,16 ppm; 326,72 ppm; 390,01,47 ppm dan 525,19 ppm dan nilai LC₅₀ sebesar 489,56 ppm; 142,66 ppm; 281,58 ppm dan 364,58 ppm.

Fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas insektisida yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi air dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt).

DAFTAR PUSTAKA

- [DepKes] Departemen Kesehatan. 2000. *Inventaris tanaman Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Agnetha, A.Y. 2005. *Efek Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum L) sebagai Larvasida Nyamuk Aedes sp* [Skripsi]. Malang. Universitas Brawijaya.
- Jung W, jang S, Hieu T.T, Lee C, Ahn Y. 2007. Toxicity Of Myristica Frgagrans Seed Compounds Againts Blattelle Germanica (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal Of Medical Entomology*. 3. 44: 524-529.
- Sembel D.T. 2009. *Entomologi Kedokteran*. Yogyakarta: Andi
- Soejoto, Soebari. 1996. *Parasitologi Medik Entomologi*. Jilid II. Surabaya: Akademi Analisis kesehatan RI.
- Wardani Ratih Sari, Mifbakhuddi, Yokorinanti Kiky. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Tembelekan (Lantana camara) terhadap Kematian larva Aedes aegypti*. Semarang: Universitas Muhammadiyah.
- Yap HH. 2001. *Pedoman Uji Hayati Insektisida Rumah Tangga*. Penerjemah; Kelompok Peneliti Vektor Penyakit. Salatiga.