

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman rumput teki yang dilakukan di Laboratorium Morfologi Tumbuhan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Berdasarkan hasil determinasi, dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rumput teki yang termasuk dalam familia *Cyperaceae* dengan nama spesies *Cyperus rotundus* Linn. Deskripsi lengkap dari tanaman rumput teki dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* Linn) yang diperoleh dari Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2019. Telur nyamuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur nyamuk *Anopheles aconitus* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, Jawa Tengah.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* Linn) menggunakan metode destilasi uap dan air. Prinsip dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaaan titik didih. Keuntungan proses ini adalah sederhana dan ekonomis, uap dapat berpenetrasi secara merata ke dalam jaringan bahan dan suhu dapat dipertahankan sampai 100°C. Lama penyulingan relatif lebih singkat, rendemen minyak atsiri lebih besar, dan mutunya lebih baik jika dibandingkan dengan hasil penyulingan dari sistem penyulingan dengan air (Ariyani *et al* 2008).

Hasil destilasi dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam proses destilasi. Hasil perhitungan kadar minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 2. Hasil dan gambar isolasi minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 2. Hasil rendemen minyak atsiri umbi rumput teki

Bobot sampel (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (%)
11,455	5,7	0,049

Kadar minyak atsiri umbi rumput teki menurut Farmakope Herba Indonesia (FHI) sebesar tidak kurang dari 0,2 % v/b. Minyak atsiri umbi rumput teki dalam penelitian menghasilkan rendemen yang tidak sesuai dengan pustaka tersebut yaitu hasil yang diperoleh 0,049%. Hal ini dikarenakan isolasi minyak atsiri yang dilakukan tidak mampu menarik senyawa yang terdapat di umbi rumput teki atau senyawa minyak atsiri telah menguap selama proses isolasi.

4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan menggunakan pengamatan panca indra meliputi mata, hidung, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri umbi rumput teki dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri umbi rumput teki

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil
1.	Warna	Kuning keemasan
2.	Bau	Khas rumput teki
3.	Bentuk	Cair
4.	Rasa	Pahit khas rumput teki

Warna minyak atsiri hasil destilasi sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan minyak pembanding pada sampel minyak atsiri, bau dan rasa minyak atsiri pada sampel memiliki bau dan rasa yang khas dari tanaman asalnya. Hasil pengamatan organoleptik menunjukkan bahwa hasil sesuai dengan pustaka.

5. Identifikasi minyak atsiri

Identifikasi minyak atsiri umbi rumput teki masing-masing ditetaskan 1 tetes pada kertas saring dan air, kemudian diamati. Hasil identifikasi minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri umbi rumput teki

Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap sempurna tanpa meninggalkan noda	Minyak akan menguap sempurna tanpa menguap sempurna tanpa meninggalkan noda (Gunawan dan Mulyani 2004)
1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh (Depkes RI (1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri umbi rumput teki menunjukkan bahwa hasil sesuai dengan pustaka, bila 1 tetes minyak ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar di permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979), jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda (Gunawan dan Mulyani 2004). Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

6. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri umbi rumput teki dapat dilihat pada table 6. Hasil penetapan indeks bias dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5. Indeks bias minyak atsiri umbi rumput teki

Sampel	Hasil indeks bias	Pustaka
Minyak atsiri umbi rumput teki	1,5785	1,5127 (Atal and Kapur 1982)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri umbi rumput teki yaitu sebesar 1.5785 indeks bias adalah perbandingan antara kecepatan cahaya dalam ruang hampa udara dibandingkan dengan kecepatan cahaya pada suatu medium. Alat untuk mengukur indeks bias disebut refraktometer, Bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer. Putaran optik menunjukkan besar sudut putaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan suhu (0°C) (Guenther 1990).

Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen-komponen minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti seskuiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al* 2000).

7. Penetapan kelarutan dalam etanol

Hasil kelarutan minyak atsiri umbi rumput teki dalam etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (artinya 1 ml minyak atsiri dilarutkan dalam 10 ml etanol 70%). Uji kelarutan dalam etanol memberikan gambaran apakah suatu minyak mudah larut atau tidak. Semakin mudah larut minyak dalam etanol maka semakin banyak senyawa kandungan polar dalam minyak. Kelarutan etanol merupakan faktor penting dalam pengujian minyak atsiri karena dapat menentukan kualitas minyak atsiri tersebut. Menurut guenther (1987) etanol merupakan gugus hidroksil (OH), karena itu etanol dapat larut dengan minyak atsiri, oleh sebab itu pada komposisi minyak atsiri yang dihasilkan tersebut terdapat komponen-komponen terpena teroksigenasi. Kelarutan minyak dalam etanol ditentukan oleh jenis komponen kimia yang terkandung dalam minyak. Pada umumnya minyak atsiri yang mengandung senyawa terpena tak teroksigenasi. Semakin tinggi kandungan terpena tak terokgenasi maka semakin rendah daya larutnya atau semakin sukar larut dalam etanol (pelarut polar). Karena senyawa terpena tak teroksigenasi merupakan senyawa non polar yang tidak mempunyai gugus fungsional. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin besar kelarutan minyak atsirinya semakin baik. Hasil penelitian adalah minyak atsiri umbi rumput teki larut dan diperoleh larutan yang bening/jernih. Hasil gambar kelarutan minyak atsiri umbi rumput teki dalam etanol 96% dapat dilihat pada lampiran 9.

8. Identifikasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kromatografi lapis tipis bertujuan untuk menentukan banyaknya komponen senyawa yang dihasilkan oleh minyak atsiri umbi rumput teki. Toluena merupakan pelarut non polar sedangkan etil asetat merupakan pelarut yang sedikit polar, sehingga dengan perbandingan eluen tersebut mampu membawa komponen minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari senyawa non polar atau semi polar, serta sebagian kecil senyawa polar. Minyak atsiri diidentifikasi dengan fase diam silika gel GF₂₅₄, Fase gerak toluena : etil asetat (93 : 7), Pembanding eugenol, Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat, positif warna coklat jingga (Depkes 1987). Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis minyak atsiri umbi rumput teki,

lempeng diamati dibawah sinar tampak, UV 254 nm dan UV 366 nm. Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa minyak atsiri umbi rumput teki sesuai dengan pustaka. Profil kromatogram minyak atsiri umbi rumput teki dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 6. Analisis minyak atsiri umbi rumput teki menggunakan KLT

Kode Bercak	Nilai Rf	Warna Bercak			Pustaka
		UV 254	UV 366	Vanilin Asam Sulfat	
A	0,46	Meredam	Flouresensi biru muda	Coklat jingga	Coklat jingga
B	0,49	Meredam	Flouresensi biru muda	Coklat jingga	Coklat jingga

Keterangan A : minyak atsiri umbi rumput teki
B : baku pembanding eugenol

9. Identifikasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GCMS)

Identifikasi senyawa menggunakan GC-MS untuk mengetahui dan memisahkan komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri umbi rumput teki. Analisis dengan GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah yang sangat kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur dan identitas senyawa organik (Agusta 2000). Hasil analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS dapat dilihat pada tabel serta lampiran 12.

Tabel 7. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri umbi rumput teki paling dominan menggunakan kromatogram

No	Area%	Nama Senyawa	Senyawa Pustaka
1	25,16	Cis,Cis,Trans-3,3,6,6,9,9-Hexamethyl-Tetracyclo	-
2	8,50	Cis,Cis,Trans-3,3,6,6,9,9-Hexamethyl-Tetracyclo	-
3	8,34	Longipinenepoxide	-
4	8,24	Alpha-Humulene, Humulene	Alpha-Humulene,
5	6,83	Alpha-Humulene, Humulene	Alpha-Humulene,
6	5,84	Tricyclo 5.1.0.02,4 Octane-5-Carboxylic Acid	-

Berdasarkan hasil dari data pada tabel 7 menunjukkan bahwa di dalam minyak atsiri umbi rumput teki yang diidentifikasi terdapat 6 Komponen senyawa. Senyawa kimia yang paling dominan diantaranya yaitu Cis,Cis,Trans-3,3,6,6,9,9-Hexamethyl-Tetracyclo (25,16%), Longipinenepoxide (8,34%) Alpha.-Humulene (8,24%),. Menurut Tiwari richa *et al* (2014) senyawa yang paling dominan yaitu *Cyperene* (9,76%), *Humulene* (7,97%), dan *B-Selinene* (7,88%). Menurut hedri

busman *et al* (2018) senyawa yang paling dominan dari minyak atsiri umbi rumput teki yaitu *Longiverbenone* (17,55%), *B-Selinene* (8,75%), dan *Caryphyllene Oxide* (6,23%). Hasil data GC-MS yang diperoleh tersebut berbeda dengan hasil data penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, tetapi senyawa-senyawa yang diperoleh sama-sama merupakan senyawa golongan seskuiterpen dan terpenoid. Perbedaan komponen senyawa yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh unsur hara tanah tempat pertumbuhan, waktu pengambilan umbi rumput teki, dan pengaruh iklim. Komponen senyawa minyak atsiri umbi rumput teki dapat dilihat pada lampiran 14.

10. Preparasi Sampel

Preparasi larutan uji minyak atsiri umbi rumput teki dibuat larutan stok 1000 ppm dengan cara diambil 0,1 ml minyak atsiri kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades dan ditambahkan tween 80 sebanyak 1 ml, lalu dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm. Media pelarut yang digunakan adalah aquadestila dan ditambahkan dengan tween 80. Kontrol positif yang digunakan dalam uji ini adalah abate dengan konsentrasi 100 ppm. Kontrol negatif (hidup) yang digunakan dalam uji ini adalah tween 80 untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap kematian telur nyamuk. Jumlah tween 80 yang digunakan untuk kontrol negatif (hidup) sama dengan jumlah ml tween yang digunakan untuk membuat larutan stok yaitu sebanyak 1 ml. menimbang minyak atsiri 0,1 ml dan dilarutkan dalam 100 ml aquadestila yang sebelumnya ditambah tween 80. tabel menunjukkan preparasi larutan stok minyak atsiri umbi rumput teki. Hasil perhitungan preparasi larutan stok dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 8. Hasil preparasi larutan stok dari minyak atsiri umbi rumput teki

No	Konsentrasi larutan uji (ppm)	Volume pemipetan larutan induk (ml)	Volume tiap konsentrasi (ml)
1.	5	0,5	100
2.	10	1	100
3.	50	5	100
4.	100	10	100
5.	150	15	100

Berdasarkan Tabel masing-masing larutan stok diambil sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 10 ml, 15 ml dan selanjutnya dilarutkan kedalam 100 ml aquades.

11. Uji Aktivitas Ovisida

Uji aktivitas ovisida dilakukan dengan menggunakan telur nyamuk *Anopheles aconitus* dimana tiap gelas uji diisi sebanyak 25 ekor telur nyamuk dan masing-masing uji dilakukan empat kali replikasi. Pengamatan dilakukan dalam waktu 48 jam setelah telur nyamuk kontak dengan larutan uji. Kontrol negatif (hidup) menggunakan tween 80. Telur nyamuk yang mati adalah telur nyamuk *Anopheles aconitus* yang ditandai dengan telur tenggelam dalam larutan sediaan uji dan didalam cangkang telur terisi larutan. Telur yang belum menetas setelah 48 jam pengamatan juga dikategorikan ke dalam telur nyamuk yang mati dimana ciri-ciri telur nyamuk yang tidak menetas adalah telur nyamuk tersebut tidak dapat meraih permukaan air atau tidak mengambang dalam permukaan air ketika air digerakkan. Table menunjukkan hasil uji aktivitas ovisida. Hasil uji aktivitas ovisida dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 9. Hasil uji aktivitas ovisida

Konsentrasi	Jumlah kematian telur nyamuk <i>Anopheles aconitus</i>			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4
5	5	4	5	6
10	11	13	12	13
50	15	17	17	18
100	21	18	21	19
150	23	24	24	23
Kontrol hidup (-)	0	0	0	0
Kontrol mati (+)	25	25	25	25

Keterangan : kontrol (-) : aquadestila + tween 80
Kontrol (+) : abate

Berdasarkan hasil uji ovisida diatas diketahui bahwa minyak atsiri umbi rumput teki memiliki aktivitas ovisida. Kontrol negatif yaitu berupa aquadestila dan tween 80 dimana kontrol negatif ini tidak berpengaruh terhadap kematian telur nyamuk *Anopheles aconitus* sehingga menunjukkan bahwa penambahan tween 80 tidak mempengaruhi larutan uji karena tidak dapat mematikan telur nyamuk *Anopheles aconitus* Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah abate.

Penelitian ini menggunakan berbagai konsentrasi dari minyak atsiri umbi rumput teki yang telah diuji pada masing-masing kelompok telur nyamuk. Kematian telur nyamuk uji bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi

larutan uji. Hal ini membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama pajanan waktu maka semakin tinggi juga kematian telur nyamuk sesuai dengan teori menurut Hojodo dan Zulhasril (2013) bahwa khasiat insektisida untuk membunuh serangga, macam bahan kimia, konsentrasi dan jumlah (dosis) insektida.

Hasil uji aktivitas ovisida kemudian ditetapkan nilai LC_{50} dan nilai LC_{90} untuk menjadi tolak ukur bahwa sampel tersebut mempunyai daya ovisida. Penetapan LC_{50} dan LC_{90} dilakukan untuk menentukan konsentrasi dari minyak atsiri umbi rumput teki yang dapat membunuh 50% dan 90% telur nyamuk *Anopheles aconitus* dalam waktu 48 jam. Daya membunuh di ketahui dengan menggunakan kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) yang merupakan hubungan linier dengan persamaan garis lurus $y = a + bx$ dengan memasukkan nilai probit 5 dari 50% kematian hewan uji sebagai y, maka akan didapat antilog x sebagai LC_{50} . Sedangkan memasukkan nilai probit 6,28 dari 90% kematian hewan uji sebagai y, maka akan didapat antilog x sebagai LC_{90} . Tabel 11 menunjukkan hasil rata-rata nilai LC_{50} dan LC_{90} minyak atsiri umbi rumput teki. Perhitungan rata-rata nilai LC_{50} dan LC_{90} minyak atsiri umbi rumput teki dapat dilihat pada lampiran 15 dan 16.

Tabel 10. Hasil penetapan nilai LC_{50} (ppm) dan nilai LC_{90} (ppm)

Replikasi	LC_{50} (ppm)	LC_{90} (ppm)
1	26,11077	139,95103
2	24,64638	128,13337
3	15,95332	115,71775
4	14,79076	178,54421
Mean \pm SD	20,37531 \pm 5,82748	140,58659 \pm 27,16061

Kriteria toksisitas insektisida menurut Wagner (1993) berdasarkan nilai LC_{50} dan LC_{90} diantaranya tinggi < 1 ppm, sedang 1-100 ppm dan lemah > 100 ppm. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai LC_{50} dari minyak atsiri umbi rumput teki dengan rata-rata sebesar 20,37 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa uji ovisida minyak atsiri umbi rumput teki termasuk kedalam kategori toksisitas sedang sebagai insektisida khususnya pada nyamuk *Anopheles aconitus*. Sedangkan penetapan nilai LC_{90} dapat disimpulkan minyak atsiri umbi rumput

teki dengan rata-rata sebesar 140,58 ppm. Hal ini membuktikan bahwa uji ovisida minyak atsiri umbi rumput teki pada LC₉₀ termasuk ke dalam kategori toksisitas rendah. Hasil perhitungan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ dapat dilihat pada lampiran 17.

Data jumlah kematian hewan uji kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Langkah pertama adalah uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, hasil menunjukkan data tersebut memiliki probabilitas <0,05 yang berarti data tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan analisis menggunakan *Kruskal Wallis* untuk mengetahui data ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Hasil data *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa parameter jumlah kematian hewan uji memiliki perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi, sehingga data dilanjutkan analisis menggunakan *Mann Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi. Berdasarkan data hasil *Mann Whitney* bahwa nilai probabilitas <0,05 dari tiap kelompok konsentrasi menunjukkan bahwa tiap variasi konsentrasi memiliki perbedaan yang signifikan. Data perbandingan nilai Asimp. Sig. dapat dilihat pada table 12 dan lampiran 18.

Mekanisme kerja ovisida dari minyak atsiri umbi rumput teki mempunyai peranan penting sebagai ovisida. Minyak atsiri merupakan suatu proses dari metabolisme sekunder yang dapat mempengaruhi oviposisi dari nyamuk betina, dapat berfungsi sebagai repellent, larvasida dan merusak telur nyamuk (Nataly Diniz dkk 2012). Menurut Ulfah dkk (2009), Kandungan minyak atsiri dapat menghambat penetasan telur karena dapat mengubah struktur dinding sel dari telur yang tersusun oleh lapisan lilin dan lipid. Perubahan lapisan struktur dinding telur terjadi perubahan permeabilitas dinding sel yang mengakibatkan cairan sel keluar tak terkendali sehingga terjadi penghambatan penetasan telur bahkan dapat menyebabkan telur tidak menetas dalam perkembangan telur memerlukan cairan sel yang bernutrisi.