

EFEK LARVASIDA HASIL FRAKSINASI EKSTRAK *N*-HEKSANA DAUN KIRINYUH (*Chromolaena odorata* L.) TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

LINA YULIANTI¹, ASEP SUPRIADIN^{1*}, DAN TINA DEWI ROSAHD¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung,
Jl. A. H. Nasution No. 105 Cibiru Kota Bandung

*Email korespondensi : asupriadin@uinsgd.ac.id

Informasi Artikel	Abstrak/Abstract
<p>Riwayat Naskah: Diterima pada 24 Mei 2017 Diterima setelah direvisi pada 29 Juni 2017 Diterbitkan pada 30 Juni 2017</p> <p>Kata Kunci: Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.); Fraksinasi; Larvasida; <i>Aedes aegypti</i>; LC₅₀.</p> <p>Keywords: Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.); Fractionation; Larvasida; <i>Aedes aegypti</i>; LC₅₀.</p>	<p>Tumbuhan kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.) telah dikenal masyarakat sebagai gulma yang digunakan untuk obat tradisional. Tumbuhan dari famili <i>Asteraceae</i> ini mengandung terpenoid dan steroid yang bersifat larvasida. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.) diduga dapat memberikan efek larvasida terhadap <i>Aedes aegypti</i>, sehingga dilakukan ekstraksi dan fraksinasi terhadap daun kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.) untuk pengujian larvasida. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan <i>n</i>-heksana, ekstrak yang didapat difraksinasi menggunakan metode KVC, KKG, KLT dan hasil fraksinasi (B2-G3) diidentifikasi dengan FTIR. Pengujian larvasida terhadap <i>Aedes aegypti</i> dilakukan pada hasil ekstraksi (<i>Crude</i>) dan fraksi B2-G3 sebagai sampel uji. Data mortalitas <i>Aedes aegypti</i> dianalisis probit dengan SPSS 16,00 untuk menentukan nilai LC₅₀ selama 72 jam. Sampel uji dikategorikan toksik jika menunjukkan nilai LC₅₀ < 1000 ppm. Hasil analisis probit menunjukkan nilai LC₅₀ fraksi B2-G3 adalah 738,938 ppm yang menunjukkan fraksi tersebut berpotensi sebagai larvasida terhadap <i>Aedes aegypti</i>. Sedangkan nilai LC₅₀ dari ekstrak <i>n</i>-heksana (<i>Crude</i>) adalah 16358,825 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak <i>n</i>-heksana dari daun kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> L.) tidak berpotensi sebagai larvasida terhadap <i>Aedes aegypti</i>.</p> <p>Kirinyuh plant (<i>Chromolaena odorata</i> L.) has been known by the public as a weed that is used as traditional medicine. Plants from the family <i>Asteraceae</i> contain terpenoids and steroids that are larvicidal. The bioactive compounds contained in the Kirinyuh plant (<i>Chromolaena odorata</i> L.) are thought to have a larvicidal effect on <i>Aedes aegypti</i>, so that extraction and fractionation of the leaves of <i>Chromolaena odorata</i> L. were carried out for larvicidal testing. Extraction was carried out by maceration method using <i>n</i>-hexane, the extract obtained was fractionated using the KVC, KKG, TLC and fractionation methods (B2-G3) identified by FTIR. Larvacide testing of <i>Aedes aegypti</i> was carried out on extraction (<i>Crude</i>) and B2-G3 fractions as test samples. The mortality data of <i>Aedes aegypti</i> was probit analyzed using SPSS 16.00 to determine the LC₅₀ value for 72 hours. The test sample is categorized as toxic if it shows the LC₅₀ value <1000 ppm. The results of the probit analysis showed that the LC₅₀ value of B2-G3 fraction was 738.938 ppm which showed that the fraction had the potential to be larvacide against <i>Aedes aegypti</i>. While the LC₅₀ value of <i>n</i>-hexane extract (<i>Crude</i>) is 16358.825 ppm which indicates that the <i>n</i>-hexane extract from kirinyuh leaves (<i>Chromolaena odorata</i> L.) has no potential as a larvacide against <i>Aedes aegypti</i>.</p>

PENDAHULUAN

Hutan tropis Indonesia merupakan sumber penghasil dan penyedia bahan kimia, serta merupakan sumber penyedia bahan-bahan kimia sebagai sumber obat, pestisida, makanan dan sumber bahan aktif lainnya [1]. Kurang lebih 3,4 miliar penduduk dalam negara berkembang bergantung pada pengobatan tradisional yang berdasarkan pada tanaman [2]. Berbagai jenis tumbuhan dan sifat-sifatnya telah diketahui oleh nenek moyang kita untuk mengobati penyakit, pembunuh jamur maupun yang lainnya.

Chromolaena odorata L. atau tumbuhan kirinyuh, merupakan tumbuhan pengganggu

karena pertumbuhan dan penyebarannya yang sangat cepat [3]. Namun, tumbuhan pengganggu ini merupakan sumber senyawa kimia aktif yang berpotensi. Tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) mengandung berbagai senyawa yang bersifat antioksidan termasuk tanin, flavonoid, alkaloid, steroid dan triterpenoid serta memungkinkan berpotensi sebagai obat [4].

Senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) diduga dapat memberikan efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan pembawa penyakit DBD (Demam Berdarah *Dongue*) dan masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Penelitian ini

dilakukan untuk mengidentifikasi efek larvasida dari ekstrak *n*-heksana tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Identifikasi dilakukan dengan menentukan nilai LC_{50} , LC_{50} digunakan untuk menilai toksisitas dari suatu senyawa. LC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh 50% populasi dari larva uji. Senyawa dikatakan memiliki efek larvasida jika senyawa tersebut memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

EKSPERIMEN

Material

Bahan kimia yang digunakan meliputi berbagai jenis pelarut teknis yang didestilasi yaitu *n*-heksana, etil asetat, metanol, dan kloroform serta pereaksi uji fitokimia dan pereaksi penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol. Silika gel Merck TLC GF₂₅₄ untuk kromatografi lapis tipis (KLT) ukuran 20x20 cm, silika G₆₀ (0,2-0,5 mm) untuk impregnasi, dan silika G₆₀ (0,063-0,200 mm) untuk kromatografi vakum cair (KVC) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Instrumentasi

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Fourier Transform InfraRed* (FTIR).

Prosedur

Penyediaan sampel

Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dibersihkan dari kotoran yang menempel, dikeringkan pada suhu kamar, kemudian dihaluskan menggunakan penggiling (*blender*) sehingga didapat 1 kg serbuk daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). Serbuk daun diekstraksi dengan pelarut *n*-heksanamenggunakan metode maserasi selama 5x24 jam secara berulang. Maserat yang diperoleh dipekatkandengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana.

Penyediaan Bioindikator

Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang dibiakkan di Laboratorium Entomologi, Sekolah Ilmu Teknik Hayati ITB.

Fraksinasi

Sebanyak 34,0254 gram ekstrak pekat difraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) dengan gradien pelarut *n*-heksana dan etil

asetat 10%. Fraksi yang didapat dari hasil KVC kemudian dilihat pola nodanya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan fraksi yang memiliki pola noda sama atau pola noda yang lebih sederhana digabungkan.

Fraksinasi tahap akhir dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan fasa diam yang digunakan Silika G₆₀ (0,063-0,200 mm) dan elusi dengan perbandingan pelarut etil asetat dan *n*-heksana. Kemudian hasil fraksinasi akhir yang didapat akan digunakan untuk uji fitokimia, uji larvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dan analisis FT-IR.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak pekat (*Crude*) *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dan terhadap hasil fraksinasi yang dilarutkan dengan pelarutnya masing-masing.

Pengujian senyawa terpenoid dan steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 2 tetes anhidrida asetat dan diaduk. Setelah itu ditetaskan 1-2 tetes H₂SO₄ pekat kemudian diamati warna yang terbentuk. Adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, sedangkan terpenoid memberikan warna merah, coklat kemerahan atau ungu.

Pengujian senyawa flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 5 tetes etanol dan dikocok sampai homogen, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Timbulnya warna kuning, jingga atau merah menunjukkan adanya flavonoid.

Pengujian senyawa tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Timbulnya warna hijau, ungu, atau hitam menunjukkan adanya senyawa tanin.

Pengujian senyawa saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok secara vertikal selama satu detik. Lalu diamati perubahan yang terjadi. Terbentuknya buih setelah penambahan HCl 2 N menunjukkan reaksi yang positif untuk saponin.

Pengujian senyawa alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan 3 metode yaitu dengan pereaksi Bouchardat, pereaksi Meyer dan pereaksi Dragendorff. Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan 1-2 tetes pereaksi Bouchardat, Meyer dan Dragendorff pada masing-masing tabung reaksi kemudian diamati perubahan yang terjadi. Pada uji dengan pereaksi Bouchardat, bila terbentuk endapan maka positif alkaloid. Pada uji dengan pereaksi Meyer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning muda.

Pada uji dengan pereaksi Dragendorff, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga.

Uji larvasida terhadap larva Aedes aegypti

Larutan uji yang digunakan adalah 7 variasi konsentrasi meliputi 0 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm, dan 1500 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam wadah gelas plastik yang berisi larva *Aedes aegypti* instar III sebanyak 10 ekor dalam 99 mL aquades. Pengamatan dilakukan dengan menghitung larva yang mati setelah 3 x 24 jam, ditandai dengan larva tenggelam atau tidak bergerak. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) dan dianalisis probit untuk mengetahui nilai LC50 dengan cara menghitung menggunakan metode SPSS 16,00.

HASIL DAN PEMBAHASAN*Persiapan Sampel Daun Kirinyuh (Chromolaena odorata L.)*

Sampel yang digunakan adalah bagian daun dari tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) yang diperoleh dari daerah Cipadung, Jawa Barat. Daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka pada suhu kamar. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan dihasilkan simplisia yang tidak mudah rusak dan lebih tahan lama [5].

Daun yang telah kering kemudian dihaluskan. Simplisia dalam bentuk serbuk halus akan mempermudah proses ekstraksi, karena penghalusan bertujuan untuk memecah sel-sel yang terdapat dalam jaringan daun serta memperluas permukaan. Semakin besar luas permukaan, maka interaksi simplisia dengan pelarut akan semakin besar sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam simplisia dapat terekstrak dengan sempurna [6].

Ekstraksi Daun Kirinyuh (Chromolaena odorata L.)

Serbuk halus daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, maserasi dilakukan secara berulang menggunakan 1,5 Liter pelarut *n*-heksana selama 5x24 jam. pengulangan pada tahap maserasi bertujuan untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang maksimal.

Penggunaan pelarut *n*-heksana ditujukan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar. Perendaman sampel akan menarik semua komponen yang terdapat dalam sampel dengan melarutkan metabolit sekunder dalam pelarut akibat pecahnya sel-sel daun. Sesekali sampel diaduk pada saat pertengahan proses maserasi, guna membantu mempercepat distribusi pelarut ke dalam jaringan tumbuhan [6,7].

Hasil maserasi selanjutnya disaring dan dipekatkan menggunakan *rotatory evaporator* dengan bantuan alat pompa vakum pada suhu 40 °C, sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana sebanyak 34,0254 gram. Tujuan proses pemekatan dengan cara evaporasi adalah agar komponen bioaktif yang terdapat dalam ekstrak tidak mengalami kerusakan akibat pemanasan yang berlebihan [8].

Fraksinasi Ekstrak Daun Kirinyuh (Chromolaena odorata L.)

Sebanyak 34,0254 g sampel ekstrak *n*-heksana diimpregnasi terlebih dahulu menggunakan silika berukuran 0,2-0,5 mm yang berfungsi sebagai lapisan penyerap. Impregnasi bertujuan agar pemisahan lebih teratur dan menghindari sampel menerobos langsung ke dinding kolom tanpa melewati adsorben terlebih dahulu sehingga akan menggagalkan proses pemisahan [9].

Silika kolom untuk pemisahan dengan kromatografi vakum cair menggunakan fasa diam berukuran 0,063-0,200 mm, silika kolom lebih halus dibandingkan silika *impreg* karena fasa diam dengan ukuran partikel yang lebih halus dan luas permukaan yang besar akan memberikan hasil pemisahan yang baik. Proses pemisahan ini berdasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran, senyawa dengan tingkat kepolaran lebih tinggi akan terikat atau tertahan pada fasa diam yang bersifat polar. Sedangkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang relatif rendah akan terelusi terlebih dahulu. Pelarut yang digunakan sebagai eluen adalah campuran *n*-heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan. Elusi dilakukan dengan pelarut yang kepolarannya rendah, lalu ditingkatkan perlahan-lahan.

Hasil pemisahan KVC ke-1 dihasilkan 11 fraksi, dengan pola noda yang berbeda, dan dibedakan atas fraksi A(1-2), B(3-5) dan C(6-11) berdasarkan KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat 9:1. Fraksi B lebih memungkinkan untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut, maka fraksi 3,4, dan 5 (fraksi B) yang memiliki pola noda sama digabungkan dan didapat sebanyak 17,3174 gram fraksi B.

Tahap KVC ke-2 menghasilkan 8 fraksi dari fraksi B, kemudian dianalisis KLT dengan perbandingan eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1). Fraksi yang didapat digabungkan berdasarkan pola noda yang sama dan dibedakan atas B1(1-3), B2(4-6) dan B3(7-8), kemudian fraksi B2 yang memiliki pola pemisahan yang lebih jelas dan sederhana dipilih untuk pemisahan lebih lanjut.

Fraksi B2 dilanjutkan pada tahap pemisahan dengan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan fasa diam silika gel G60 ukuran (0,063-0,200 mm) dan dielusi dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1). Hasil fraksinasi yang terbentuk kristal kemudian dikumpulkan dan dilakukan uji KLT sehingga didapat fraksi B2-2. Fraksi B2-2 masih perlu dilakukan pemisahan, sehingga dilakukan pemisahan dengan KKG ke-2 dengan eluen *n*-heksana : etil asetat 8:2.

Fraksi yang didapat setelah proses KKG ke-2 kemudian dilakukan uji KLT dan dibedakan kembali berdasarkan pola noda yang sama. Kemudian didapat fraksi B2-2B yang telah terbentuk kristal dan memiliki pola noda sama. Fraksi B2-2B kemudian dilakukan pemisahan kembali dengan KKG ke-3 untuk menyederhanakan kembali pola nodanya dengan eluen *n*-heksana : etil asetat:aseton 8:2:1. Fraksi yang didapat dari pemisahan akhir berbentuk kristal, dan dilakukan pengumpulan kristal berdasarkan uji KLT dengan pola noda yang lebih sederhana.

Fraksi hasil pemisahan yang didapat yaitu B2-G3 yang berbentuk kristal putih, kemudian dilakukan rekristalisasi menggunakan metanol hangat hingga didapat kristal yang lebih murni. Fraksi B2-G3 kemudian digunakan untuk uji fitokimia tahap akhir, uji spektrofotometer FT-IR dan uji larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Hasil Fitokimia Ekstrak *n*-heksana dan Fraksi B2-G3

Uji fitokimia merupakan analisis kualitatif untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman. Uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksana dan fraksi B2-G3 dari daun kirinyuh

(*Chromolaena odorata* L.) dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.)

Golongan	Ekstrak Pekat	Fraksi B2-G3
Terpenoid dan steroid	+	+
Flavonoid	-	-
Tanin	-	-
Saponin	-	-
Alkaloid:		
Buchardat	-	-
Meyer	-	-
Dragendorff	-	-

Pengujian ekstrak dengan pereaksi Liebermann-burchard menunjukkan positif terpenoid dengan terbentuknya warna coklat kemerahan dan warna hijau untuk steroid.

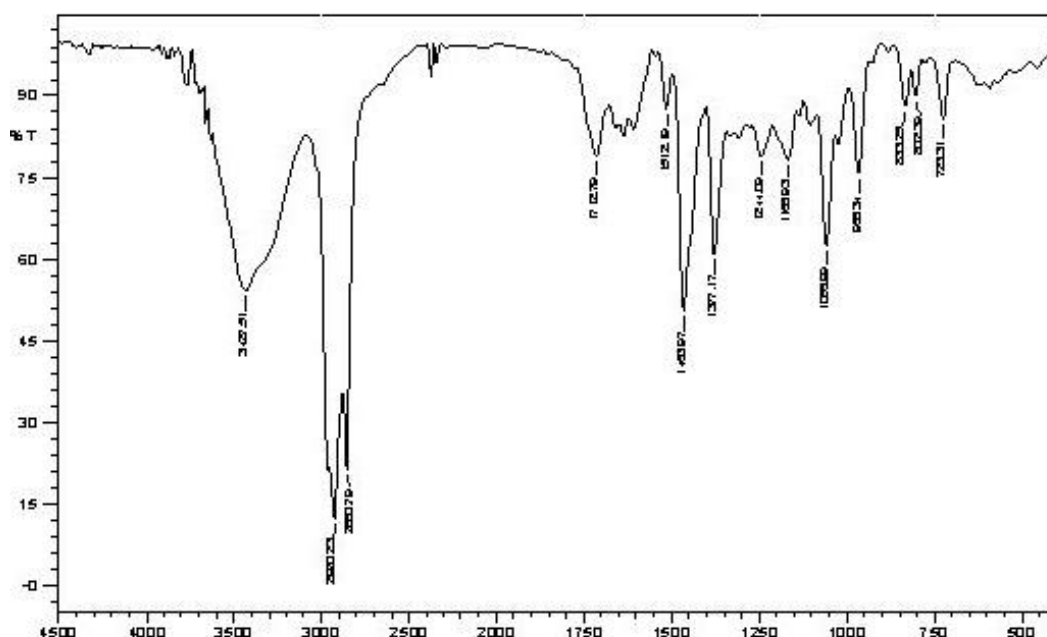
Hasil uji terpenoid terhadap ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dengan pereaksi Liebermann-burchard menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna coklat kemerahan. Perubahan warna tersebut disebabkan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui ikatan rangkap terkonjugasi, mekanisme reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan karbocation. Terbentuknya warna coklat kemerahan adalah karena senyawa mengalami perpanjangan konjugasi [10].

Ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) positif mengandung terpenoid, sedangkan fraksi B2-G3 positif mengandung steroid. Hasil tersebut disebabkan oleh proses pemisahan terhadap ekstrak dengan berbagai macam metode pemisahan, sehingga memungkinkan pada fraksi akhir pemisahan menunjukkan positif mengandung steroid. Hal ini diperkuat bahwa steroid yang terdapat dalam berasal dari triterpenoid yang merupakan kelompok terpenoid, sehingga adanya perbedaan hasil fitokimia antara ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dengan pereaksi Liebermann-burchard menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna coklat kemerahan. Perubahan warna tersebut disebabkan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui ikatan rangkap terkonjugasi, mekanisme reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan karbocation. Terbentuknya warna coklat kemerahan adalah karena senyawa mengalami perpanjangan konjugasi.

Analisis Spektroskopi FT-IR Isolat Fraksi B2-G3

Berdasarkan gugus fungsi yang diperoleh dari hasil FT-IR fraksi B2-G3 yang ditunjukkan pada **Gambar 1** dan **Tabel 2**. Dugaan senyawa

yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) adalah senyawa golongan steroid. Hasil FT-IR tersebut memperjelas hasil uji fitokimia.



Gambar 1. Spektrum FTIR fraksi B2-G3 kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.)

Tabel 2. Data spektrum FTIR fraksi B2-G3

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Bentuk pita	Intensitas	Dugaan gugus fungsi
3427,51	Melebar	Sedang	O-H regang
2920,23	Tajam	Kuat	C-H alifatik
1512,19	Tajam	Sedang	C=C siklik
1463,97	Tajam	Sedang	CH ₂ tekuk
1377,17	Tajam	Sedang	CH ₃ tekuk
1056,99	Tajam	Sedang	C-OH regang
966,34	Tajam	Sedang	=C-H tekuk

Adanya puncak pita serapan dari gugus O-H (3230 cm⁻¹ - 3550 cm⁻¹) pada daerah bilangan gelombang 3427,51 cm⁻¹ yang diduga merupakan serapan ulur (*stretching*), dugaan tersebut diperkuat oleh serapan ulur C-OH (1085 cm⁻¹ - 1030 cm⁻¹) pada bilangan gelombang 1056,99 cm⁻¹. Kemudian pada bilangan gelombang 2920,23 cm⁻¹ dan 2850,79 cm⁻¹ menunjukkan serapan ulur -CH alifatik (2950 cm⁻¹ - 2850 cm⁻¹) yang memberikan petunjuk kemungkinan adanya gugus metil (CH₃) dan metilena (CH₂). Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1463,97 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan tekuk C-H dari CH₂ (1480 cm⁻¹ - 1440 cm⁻¹) dan serapan pada daerah bilangan gelombang 1377,17 cm⁻¹ yang menunjukkan

serapan tekuk C-H dari CH₃ (1385 cm⁻¹ - 1360 cm⁻¹).

Pita serapan pada bilangan gelombang 1512,19 cm⁻¹ yang menunjukkan uluran C=C siklik (1900 cm⁻¹ - 1500 cm⁻¹) yang diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 966,34 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya serapan tekuk =C-H (1000 cm⁻¹ - 650 cm⁻¹). Berdasarkan hasil analisis dari data spektrum spektroskopi inframerah menunjukkan adanya gugus hidroksil (OH), alkil (CH₂ dan CH₃), C-O alkohol sekunder dan alkena (C=C), maka dugaan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) adalah senyawa golongan steroid [11,12].

Uji Larvasida Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap Larva *Aedes aegypti*

Pengujian terhadap larva *Aedes aegypti* dilakukan dengan mengidentifikasi efek larvasida dari ekstrak *n*-heksana hasil maserasi (*crude*) dan fraksi B2-G3.

Fraksi dibuat 7 varian konsentrasi yang digunakan diantaranya 0 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm dan 1500 ppm [13]. Pengujian dari tiap varian konsentrasi akan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan jumlah kematian bioindikator akan dihitung tiap

3x24 jam untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

Efek larvasida selanjutnya akan ditentukan dari nilai LC_{50} yang didapat setelah analisis probit. LC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh 50% populasi dari larva uji.

Berdasarkan hasil analisis probit, nilai LC_{50} pada ekstrak maserasi adalah 16358,825 ppm dan nilai LC_{50} fraksi B2-G3 adalah 738,938 ppm ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Mortalitas uji larvasida fraksi ekstrak maserasi *n*-Heksana dan B2-G3 daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap larva *Aedes aegypti*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva	Jumlah Larva Mati			Rata-rata Jumlah Larva Mati	LC ₅₀ (ppm)
			Ulangan				
			1	2	3		
Ekstrak maserasi	0	10	0	0	0	0	16358,825
	250	10	0	0	1	0,3	
	500	10	1	1	1	1	
	750	10	1	2	0	1	
	1000	10	2	1	1	1,3	
	1250	10	1	2	1	1,3	
	1500	10	1	2	2	1,6	
B2-G3	0	10	0	0	0	0	738,938
	250	10	3	3	1	2,3	
	500	10	4	5	4	4,3	
	750	10	5	5	4	4,6	
	1000	10	5	7	5	5,6	
	1250	10	6	8	6	6,6	
	1500	10	7	6	7	6,6	

Pengujian larvasida dengan menggunakan nilai LC_{50} analisis probit, senyawa dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Umumnya angka kematian larva uji akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi larutan uji. Dari data yang diperoleh, fraksi B2-G3 lebih bersifat larvasida dibandingkan ekstrak *n*-heksana.

Ekstrak *n*-heksana masih mengandung banyak senyawa yang memiliki peranan tersendiri dalam menghambat larva *Aedes aegypti*, sehingga timbul efek antagonis antar senyawa yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). Efek antagonis terjadi apabila dua atau lebih zat kimia yang diberikan secara bersamaan, maka zat kimia yang satu akan melawan zat kimia lainnya [14].

Adanya ketidakmampuan larva dalam mendetoksifikasi senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuhnya, mengakibatkan kematian larva. Steroid merupakan hormon pertumbuhan yang mempengaruhi pergantian kulit larva. Steroid akan mengakibatkan dinding sel kitin pada tubuh larva menebal, sehingga pertumbuhan larva akan terganggu dan menyebabkan kematian pada larva [15].

Sifat non-polar terpenoid mudah menembus membran sel pada sisi hidrofobik sehingga membentuk misel. Adanya interaksi antara senyawa non-polar dari terpenoid dengan

bagian non-polar dari membran sel menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu. Terpenoid juga memiliki efek sinergis bagi toksin lain dengan bertindak sebagai solven untuk memfasilitasi toksin bergerak melalui membran sehingga mengganggu metabolisme larva dan mengakibatkan kematian larva [16].

SIMPULAN

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dan analisis spektrum FT-IR pada fraksi B2-G3 menunjukkan positif mengandung senyawa golongan steroid.

Nilai LC_{50} dari ekstrak *n*-heksana daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) adalah 16358,825 ppm sedangkan nilai LC_{50} dari fraksi B2-G3 adalah 738,938 ppm. Dengan hasil tersebut fraksi B2-G3 memiliki efek larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti* karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Pengujian Kimia ITB atas diskusi interpretasi *Fourier Transform InfraRed* (FTIR).

REFERENSI

- [1] Partomuan Simanjuntak, "Strategi Pencarian senyawa Bioaktif baru dari Sumber Bahan Alami," *Puslit Bioteknologi-LIPI*, 2012.
- [2] D S Satyajit and Lutfun Nahar, *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi*. Yogyakarta, Indonesia: Pustaka Pelajar, 2009.
- [3] M Thamrin, S Asikin, and M Willis, "Tumbuhan Kirinyu *Chromolaena odorata* (L) (Asteraceae: Asterales) sebagai Insektisida Nabati untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* ," *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, vol. 32, no. 3, pp. 112-121, September 2013.
- [4] Sudding , "Isolation and Identification Secondary Metabolites Compound Ethyl Acetate: n-Hexane (4:6) Fraction of Gulma Siam Leaves (*Chromolaena odorata* L.)," in *Proceeding of International Conference On Research, Implementation and Education of Mathematics and Science*, Yogyakarta, 2014, pp. C195 - C202.
- [5] Depkes RI, *Farmakognosi: Jilid 1*. Jakarta, indonesia: Depkes RI, 2004.
- [6] Puji Lestari, "Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam)," Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Skripsi 2010.
- [7] M Muwaffaq Zaki, "Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak n-Heksana Lumut Hati *Mastigophora diclados* (Brid. Ex Web) Nees.," UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta, Skripsi 2013.
- [8] J B Harbone, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* , 2nd ed. Bandung: ITB, 1984.
- [9] Sri Atun, "Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam ," *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, vol. 8, no. 2, pp. 53-61, 2014.
- [10] S A E Widiastuti, A D Sri Retno, Ashadi , and M C Bakti, "Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk," in *Seminar Nasional Kimia FKIP UNS*, 2014.
- [11] Unang Supratman, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung, Indonesia: Widya Padjadjaran, 2010.
- [12] M R A Pramana and Chaerul Saleh, "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-Heksana dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh.) ," *Jurnal Kimia Mulawarman*, vol. 10, no. 2, 2013.
- [13] Wildan Nuryadin, "Uji Efek Larvasida Minyak Atsiri Limbah Jeruk Peras (*Citrus sinesis* (L) Obbeck.)," UIN Sunan Gunung Djati Bandung, Bandung, Skripsi 2014.
- [14] Lia Diana, "Efektivitas Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle.) Terhadap Mortalitas larva *aedes aegypti* L.," Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, 2013.
- [15] Dina Pratiwi, Prahastiwi , A Eka, and Meta Safitri, "Uji aktivitas Larvasida Ekstrak Etil Asetat Herba Anting-Anting (*Alcalypha indica* L.) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*," *Farmagazine*, vol. 2, no. 1, 2015.
- [16] Gina F Lutfiana, "Karakterisasi Ekstrak Kulit batang dan Ranting *Aglaia cucullata* serta Bioaktivitasnya Terhadap Larva Udang (*Artemia salina leach*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) ," UIN Sunan Gunung Djati Bandung, Bandung, Skripsi 2014.