

Isolasi, Identifikasi Minyak Atsiri Fuli Pala (*Myristica fragrans*) dan Uji Aktivitas Sebagai Larvasida

Ismiyarto^{a*}, Ngadiwiyana^a, Rani Mustika^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275

* Corresponding author: ismiyarto@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:

Fuli nutmeg,
Nutmeg, miristisin,
essential oil
nutmeg, larvicidal,
kamfen

Abstract

Pala plants (*Myristica fragrans*) which is original plants from Indonesia and Indonesia is biggest exporter country seed and mace of pala bigger in world. Pala seed produces essential oil between 2-15% while pala mace produces between 7-18% essential oil. In essential oil of mace contained compound myristicin which toxic and kamfen compound which is hallucinogen substance and refuse insect. The aim of this research was to isolate, identify of essential oil from pala mace and also to determine effective toxicity as larvaside. This research was conducted in three steps. First step was isolation of essential oil from pala mace with steam distillation method. Second step was identification covering test of physical characters (colour, odor, rendement, specific gravity and refractive index) and identify chemical component of essential oil resulted from the isolation with GC-MS method. Third step was toxicity test of essential oil as larvaside toward mosquito larva *Aedes aegypti* instar III where was result will compared with methanol extract pala mace. The result of this research obtained essential oil was colour pure yellow typical odor with rendement 3,22%, specific gravity of 0.9397 g/mL at 25°C and refractive index of 1.493 (25°C). Identifying chemical component was conducted with GC-MS method shown that essential oil of pala mace resulted from the isolation contained component α -pinen (13,08%), β -pinen (15,14%), sabinene (22,93%), limonene (5,60%) and myristicin (26,46%). Based on toxicity test essential oil pala mace as larvaside toward mosquito larva *Aedes aegypti* instar III shown LC_{50} -6 hour 224.399 ppm, LC_{50} -12 hour was 150.724 ppm and LC_{50} -24 hour was 111.002 ppm. Whereas at methanol extract shown LC_{50} -24 hour was 304,434 ppm and LC_{50} -48 hour was 284 ppm. So that can be asked that essential oil pala mace potentially as larvaside than methanol extract pala mace.

Abstrak

Kata kunci:

Fuli pala, Pala,
miristisin, minyak
atsiri fuli pala,
larvasida, kamfen

Tanaman pala (*Myristica fragrans*) adalah tanaman asli Indonesia dan Indonesia merupakan negara pengekspor biji dan fuli pala terbesar di dunia. Biji pala menghasilkan minyak atsiri 2-15% sedangkan fuli menghasilkan 7-18% minyak atsiri. Dalam minyak atsiri fuli pala mengandung senyawa miristisin yang bersifat toksik dan senyawa kamfen yang merupakan zat pembius dan penolak serangga. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi minyak atsiri dari fuli pala serta mengetahui toksisitas efektif sebagai larvasida. Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap. Tahap pertama yaitu isolasi minyak atsiri dari fuli pala dengan metode destilasi uap. Tahap kedua adalah identifikasi yang meliputi uji sifat fisik (warna, bau, rendemen, berat jenis dan indeks bias) dan identifikasi komponen kimia minyak atsiri hasil isolasi dengan metode GC-MS. Tahap ketiga adalah uji toksisitas minyak atsiri sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dimana hasilnya akan dibandingkan dengan ekstrak metanol fuli pala. Dari hasil penelitian diperoleh minyak atsiri berwarna kuning jernih yang berbau

khas pala dengan rendemen sebesar 3,22%, berat jenis sebesar 0,9397 g/mL pada 25°C dan indeks bias sebesar 1,493 (25°C). Identifikasi komponen kimiawi dengan metode GC-MS menunjukkan minyak atsiri fuli pala hasil isolasi mengandung komponen α -pinen (13,08%), β -pinen (15,14%), sabinene (22,93%), limonene (5,60%) dan miristisin (26,46%). Berdasarkan uji toksisitas minyak atsiri fuli pala sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III akhir menunjukkan nilai LC_{50} -6 jam sebesar 224,399 ppm, LC_{50} -12 jam sebesar 150,724 ppm dan LC_{50} -24 jam sebesar 111,002 ppm. Sedangkan pada ekstrak metanol menunjukkan nilai LC_{50} -24 jam sebesar 304,434 ppm dan LC_{50} -48 jam sebesar 284,200 ppm. Sehingga dapat dikatakan bahwa minyak atsiri fuli pala lebih berpotensi sebagai larvasida dibandingkan dengan ekstrak metanol fuli pala.

1. Pendahuluan

Tanaman pala (*Myristica fragrans*) adalah tanaman asli Indonesia yang berasal dari kepulauan Banda dan Maluku. Indonesia merupakan negara pengekspor biji pala dan fuli terbesar di pasaran dunia (sekitar 60%) dan sisanya dipenuhi dari negara lain. Tanaman pala dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Hasil tanaman pala yang biasa dimanfaatkan adalah buah pala. Buah pala terdiri dari daging buah (77,8%), fuli (4%), tempurung (5,1%) dan biji (13,1%). Bagian buah yang bernilai ekonomis cukup tinggi adalah biji pala dan fuli (*mace*) yang dapat dijadikan minyak pala. Daging buah pala dapat dimanfaatkan untuk diolah menjadi manisan pala, asinan pala, dodol pala, selai pala dan sirup pala.

Sebagai tanaman rempah-rempah, pala dapat menghasilkan minyak atsiri dan lemak khusus yang berasal dari biji dan fuli. Biji pala menghasilkan minyak atsiri 2-15% dan 30-40% lemak, sedangkan fuli menghasilkan 7-18% minyak atsiri dan 20-30% lemak (fuli adalah ari yang berwarna merah tua dan merupakan selaput jala yang membungkus biji).

Tanaman pala menghasilkan senyawa miristisin, miristisin terdapat dalam minyak pala dan minyak fulinya, dimana minyak fuli mengandung lebih banyak senyawa miristisin daripada minyak biji pala (50% dari jumlah fuli) [1]. Miristisin adalah salah satu komponen yang menyebabkan minyak pala bersifat toksik [2]. Efek racun pada minyak pala tidak hanya disebabkan oleh miristisin, tetapi juga disebabkan oleh produk metabolit miristisin yaitu 3-metoksi-4,5-metilendioksiamfetamina (MMDA) dan trimetoksiamfetamina [3]. Miristisin memiliki struktur yang mirip dengan amfetamin yang menyebabkan minyak pala memiliki efek psikotropik (bersifat halusinogen). Toksisitas minyak pala disisi lain dapat memberikan keuntungan. Minyak pala dapat digunakan sebagai pestisida. Penggunaan minyak pala sebagai pestisida didasari oleh fakta bahwa minyak pala juga memiliki aktivitas insektisida, fungisida dan bakterisida. Minyak pala mengandung senyawa monoterpen (kamfena) yang merupakan zat pembius dan penolak serangga [4].

Adanya senyawa kamfen dan miristicin dalam pala ini telah dibuktikan oleh Janssens, dkk. [5] yang menyatakan bahwa kandungan minyak atsiri pala sekitar 5-15% yang meliputi pinen, sabinen, kamfen, miristicin,

elemisin, isoelemisin, eugenol, isoeugenol, metoksieugenol, safrol, dimerik polipropanoat, lignan, dan neolignan. Adanya kamfen dalam minyak pala juga telah dibuktikan oleh [6]. Tawatsin, dkk. [6] juga menyatakan bahwa dalam minyak atsiri pala mempunyai potensi sebagai penolak terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dan nyamuk *Culex*.

Berdasarkan hal tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi minyak atsiri dari fuli pala dengan metode destilasi uap serta menganalisis komponen-komponen kimia minyak pala baik secara kualitatif maupun kuantitatif dengan menggunakan alat GC-MS, serta menentukan toksisitas efektif minyak atsiri pala terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

2. Metode Penelitian

Sampel

Sampel yang digunakan adalah fuli buah pala (*Myristica fragrans*), yang diambil di daerah kebun pala Semirang, Kecamatan ungaran, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu: blender, timbangan analit, kertas saring, kertas aluminium foil, seperangkat alat destilasi, maserator, penguap putar (*rotary evaporator*) Buchi, piknometer, gelas beker, kaca arloji, tabung reaksi, labu ukur, botol vial, corong kaca, corong pisah, pipet tetes, statif dan klem, kapas, tissue, kertas pH, penangas listrik, kasa kawat, pengaduk, gelas plastik dan spektrometer GC-MS Shimadzu.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu: Metanol, FeCl₃, Asam Klorida pekat, Asam sulfat pekat, Amil alkohol, Dietil Eter, Larutan Tween-20, Kloroform, Aquades, Amonia, H₂SO₄ 2N, HCl 2N, Serbuk Mg, Pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, Asam asetat anhidrat, Na₂SO₄ anhidrat, Etil asetat dan telur nyamuk *Aedes aegypti*.

Tahap-tahap Penelitian

Pembuatan serbuk halus fuli buah pala

Fuli pala kering yang diperoleh dari PTP Semirang Ungaran selanjutnya dihancurkan dengan blender sampai berbentuk serbuk, kemudian serbuk diayak hingga didapat serbuk halus.

Penapisan Fitokimia

Serbuk sampel yang dihasilkan selanjutnya diidentifikasi kandungan bahan aktifnya melalui uji fitokimia. Uji ini meliputi identifikasi adanya Tanin, Alkaloid, Saponin, Flavonoid, Terpenoid/Steroid dan kuinon.

Identifikasi Tanin. Sebanyak 50 mg serbuk sampel dididihkan dalam 10 mL air selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya di tambahkan larutan FeCl_3 1% dan timbulnya warna hijau violet, hitam menunjukkan adanya tanin.

Identifikasi Alkaloid. Sebanyak 5 mg serbuk simplisia dilembabkan dengan 5 mL amonia 25% dan digerus dalam krus porselin. Kemudian ditambah 20 mL kloroform dan digerus kuat selanjutnya disaring. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 mL larutan organik diekstraksi 2 kali dengan HCl (1:10). Sebanyak 5 mL larutan ini masing-masing dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah bata setelah ditambahkan pereaksi Dragendorff dan endapan putih setelah ditambah pereaksi Meyer.

Identifikasi Saponin. Sebanyak 5 g serbuk dididihkan dalam 100 mL air selama 5 menit, kemudian disaring dalam keadaan panas. Larutan tersebut diambil sebanyak 10 mL kemudian dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil sekitar 10 menit dan tidak hilang pada penambahan setetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi Flavonoid. Sebanyak 5 mL filtrat dari larutan (3) ditambah serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok kuat dan dibirkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Identifikasi Triterpenoid/Steroid. Sebanyak 5 g serbuk dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, kemudian disaring. Selanjutnya 5 mL filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kemudian ditambah setetes asam asetat anhidrat dan setetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

Identifikasi Kuinon. Sebanyak 1 g sampel dididihkan dalam 10 mL air selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Kemudian ke dalam 5 mL filtrat tersebut dimasukkan natrium hidroksida 1N. Jika terbentuk warna merah, menunjukkan adanya kuinon.

Isolasi Minyak Atsiri dengan Metode Destilasi Uap

Serbuk sampel yang telah ditimbang dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan akuades. Peralatan destilasi kemudian dipasang dan dipanaskan. Destilasi dilakukan selama dua jam setelah mendidih. Tampung destilat yang diperoleh. Setelah proses destilasi selesai, uap air yang berisi minyak dari hasil destilasi

kemudian dipisahkan dengan corong pisah dengan menambahkan pelarut dietil eter. Fraksi air yang diperoleh dari pemisahan tersebut dibuang sementara fraksi dietil eter diuapkan, sehingga diperoleh minyak pala. Minyak pala yang diperoleh selanjutnya dimurnikan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat, kemudian didekantir disaring sehingga diperoleh minyak pala yang murni bebas air.

Karakterisasi Minyak Atsiri

Minyak atsiri yang diperoleh kemudian ditentukan warna, bau, berat jenis dan indeks biasnya.

Identifikasi Komposisi Minyak Pala dengan GC-MS

Komponen-komponen minyak atsiri hasil isolasi ditentukan dengan alat GC-MS. Penentuan senyawa komponen minyak dilakukan dengan membandingkan pola fragmen isi spektra GC dengan pola fragmentasi spektra MS senyawa yang telah diketahui strukturnya yang berasal dari data base komputer yang telah dihubungkan dengan alat GC-MS.

Uji Toksisitas Minyak Atsiri terhadap Larva *Aedes aegypti*

Pengadaan Hewan Uji. Hewan uji yang digunakan adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III akhir untuk uji toksisitas. Larva diperoleh dari Balai Besar Penelitian & Pengembangan Vektor & Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga.

Uji Bioassay. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ambang bawah (LC_5) dan ambang atas (LC_{90}). Kriteria mati pada hewan uji adalah hewan uji tidak bergerak bila disentuh dan tidak bisa mencapai permukaan. Ditentukan 6 tingkatan konsentrasi dari minyak atsiri ditambah perlakuan kontrol. Larutan minyak atsiri-air bahan uji digunakan sebagai medium hidup larva. Konsentrasi minyak atsiri-air adalah 70, 90, 100, 300, 500, 700 dan 0 ppm sebagai kontrol dengan masing-masing 1x ulangan. Uji tersebut bertujuan untuk melihat kisaran konsentrasi yang dapat digunakan dalam penelitian utama. Hewan uji adalah larva *Aedes aegypti* instar III akhir sebanyak 20 larva yang dimasukkan dalam gelas plastik berukuran 220 ml yang berisi 50 ml larutan berbagai konsentrasi ekstrak-air. Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase kematian larva setiap jam sampai jam ke-6.

Uji Toksisitas Utama. Uji toksisitas utama yaitu LC_{50-24} jam dilakukan dengan ekstrak minyak atsiri sebagai bahan uji, konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil uji pendahuluan antara LC_{90} dan LC_5 . Hasil uji dikatakan efektif jika ekstrak yang diujikan menyebabkan 50% kematian pada hewan uji (LC_{50}).

Perlakuan yang diinginkan dalam pendugaan LC_{50-24} jam adalah 5 perlakuan dan 1 kontrol. Konsentrasi yang digunakan adalah 100, 150, 200, 250 300 dan 0 ppm sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan serta kontrol diulangi sebanyak 5x. Masing-masing perlakuan dilakukan didalam gelas 220 ml yang berisi larutan ekstrak (bahan uji) dengan konsentrasi yang telah

ditentukan, dimana sebanyak 50 mL diisi 20 larva *Aedes aegypti* instar III akhir. Perlakuan ini dilakukan selama 24 jam, mortalitas larva masing-masing perlakuan diamati setiap jam, jam ke 6, 12 dan sampai 24 jam. Selanjutnya penentuan nilai LC₅₀-24 jam terhadap mortalitas larva uji dianalisa dengan menggunakan analisa probit.

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Minyak Atsiri Fuli Pala

Serbuk sampel kering yang didapatkan dilakukan analisis fitokimia. Penapisan fitokimia atau *screening* fitokimia dilakukan untuk mendapatkan gambaran umum mengenai golongan atau senyawa yang terkandung di dalam sampel. Dari penapisan fitokimia yang dilakukan menunjukkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Fuli Kering

Golongan	Tanin	Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Steroid/Terpenoid	Kuinon
Hasil	++	++	-	+++	+++/>++	++

Keterangan:

+: terdapat senyawa yang dimaksud dengan intensitas kenampakan

: tidak terdapat senyawa yang dimaksud dengan intensitas kenampakan

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa di dalam fuli pala kering terdapat senyawa metabolit sekunder berupa tanin, alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid dan kuinon. Sedangkan senyawa atau golongan saponin tidak terdapat dalam sampel fuli pala kering.

Tahap selanjutnya setelah dilakukan penapisan fitokimia, serbuk sampel yang sudah kering dilakukan pemisahan minyak atsiri dengan metode destilasi uap. Pada sistem penyulingan yang digunakan, sampel/bahan yang akan disuling kontak secara langsung dengan air mendidih. Pemilihan metode destilasi air ini dilakukan karena metode ini baik digunakan untuk menyuling bahan yang berbentuk serbuk (tepung) dan bunga-bunga yang mudah menggumpal apabila terkena panas. Proses pemisahan minyak atsiri dengan metode destilasi air ini dilakukan selama 2 jam setelah terjadinya kondensasi. Komponen-komponen minyak atsiri pada sampel akan teruapkan dari jaringan bersama-sama uap air. Setelah uap minyak dan uap air melalui kondensor, uap akan mengembun berubah menjadi cairan destilat dan ditampung. Destilat merupakan campuran antara minyak dan air dengan minyak berada di atas karena berat jenis minyak lebih rendah daripada berat jenis air.

Lapisan air hasil destilasi diekstraksi dengan pelarut eter. Hal ini bertujuan untuk memisahkan minyak fuli yang kemungkinan masih terdapat dalam lapisan air sehingga dapat meningkatkan rendemen minyak fuli.

Lapisan minyak fuli dan eter ini kemudian diuapkan pelarut eternya untuk memperoleh minyak fuli. Untuk mendapatkan minyak fuli pala murni, selanjutnya minyak hasil isolasi dihilangkan air yang masih terkandung dengan menggunakan Na₂SO₄ anhidrat. Adanya Na₂SO₄ anhidrat akan mengikat air yang masih terkandung dalam minyak fuli, sehingga diperoleh minyak atsiri fuli pala murni yang bebas air.

Minyak atsiri fuli pala yang dihasilkan pada penelitian ini sebanyak 11,33 g dari sampel kering sebanyak 351,6088 g. Rendemen minyak atsiri fuli pala yaitu sebesar 3,22%. Rendemen yang dihasilkan ini jauh berbeda dengan yang terdapat di literatur sebesar 8-17%. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh banyaknya minyak yang hilang pada saat proses pengeringan dan penghalusan sampel.

Selanjutnya minyak diidentifikasi tetapan fisiknya yaitu warna, bau, berat jenis dan indeks bias. Minyak atsiri fuli pala yang diperoleh berwarna kuning jernih dan berbau khas pala. Hasil pengukuran berat jenis minyak atsiri fuli pala yaitu 0,9397 g/mL pada 25°C, menurut literatur sebesar 0,847-0,919 pada 25°C sedangkan indeks biasanya sebesar 1,493 pada 25°C (literatur 1,472-1,495 pada 25°C). Nilai tetapan fisik ini biasanya digunakan untuk mengetahui kualitas dan kemurnian minyak atsiri dengan cara membandingkan dengan tetapan fisik minyak atsiri fuli pala standar.

Pada penelitian ini, selain dilakukan pengisolasian minyak atsiri fuli pala dilakukan juga maserasi sampel kering menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam. Pelarut metanol merupakan pelarut universal sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa bahan alam secara umum, baik senyawa polar, semi polar maupun non polar. Pemekatan terhadap ekstrak hasil maserasi dilakukan dalam keadaan vakum dengan menggunakan rotary evaporator menghasilkan ekstrak pekat yang berwarna coklat tua. Ekstrak pekat hasil maserasi ini nantinya akan dibandingkan toksisitasnya dengan minyak atsiri dalam uji larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Selanjutnya ekstrak pekat hasil maserasi ini dilakukan analisis fitokimia. Penapisan fitokimia atau *screening* fitokimia dilakukan untuk mendapatkan gambaran umum mengenai golongan atau senyawa yang terkandung di dalam ekstrak hasil maserasi. Dari penapisan fitokimia yang dilakukan menunjukkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol

Golongan	Tanin	Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Steroid/Terpenoid	Kuinon
Hasil	++	++	*	+++	+++/>++	++

Keterangan:

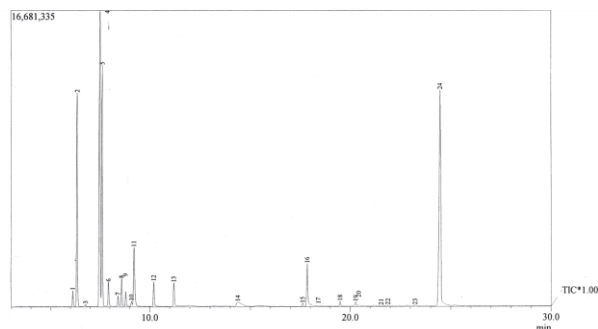
*: tidak dilakukan

+: terdapat senyawa yang dimaksud dengan intensitas kenampakan

- : tidak terdapat senyawa yang dimaksud dengan intensitas kenampakan

Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Fuli Pala

Untuk mengetahui komponen kimiawi dari minyak atsiri fuli pala, dilakukan analisis menggunakan metode GC-MS. Salah satu syarat suatu senyawa dapat dianalisis dengan GC-MS adalah senyawa tersebut mudah menguap (volatil). Hasil analisis GC menunjukkan 24 puncak yang berarti ada 24 komponen senyawa pada minyak atsiri fuli pala hasil isolasi. Keduapuluh empat komponen tersebut selanjutnya diidentifikasi memakai spektroskopi massa. Identifikasi selanjutnya dilakukan pada enam senyawa dengan intensitas puncak paling tinggi yang menunjukkan kelimpahan terbanyak dalam minyak atsiri fuli pala hasil isolasi. Senyawa yang diidentifikasi adalah senyawa dengan nomer puncak 2, 4, 5, 11, 16 dan 24.

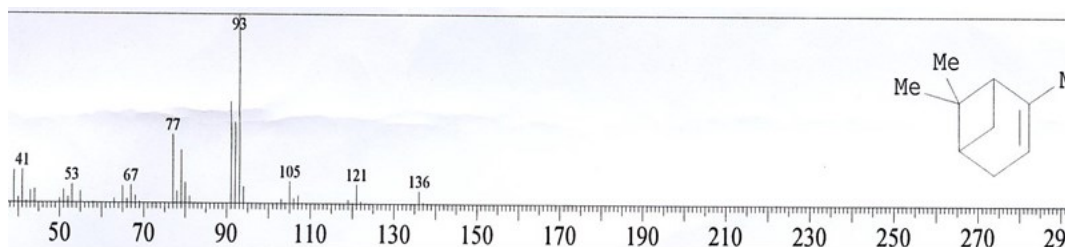


Gambar 1. Kromatografi GC minyak atsiri fuli pala

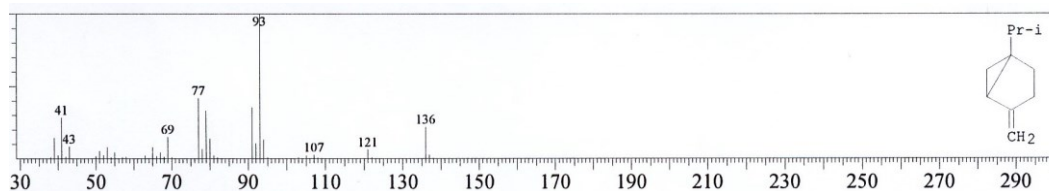
Dari gambar 1 ini terlihat adanya 5 puncak tertinggi yang menunjukkan komponen utama dari minyak fuli pala. Data yang lebih lengkap mengenai keenam puncak tersebut ditampilkan pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Data komponen penyusun minyak fuli pala

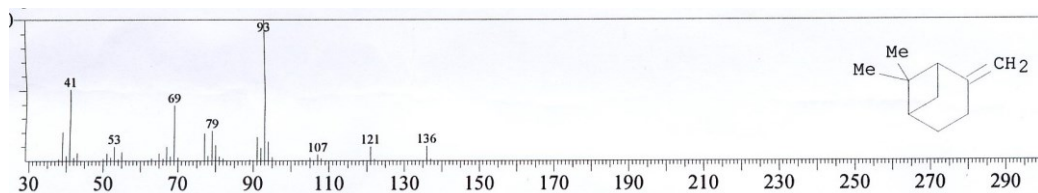
Puncak	Waktu retensi (menit)	% Area	Massa molekul (g/mol)	m/e	Senyawa
2	6,351	13,08	136	41, 53, 67, 77, 93, 105, 121 dan 136	α -pinen
4	7,505	22,93	136	41, 43, 69, 77, 93, 107, 121 dan 136	Sabinene
5	7,626	15,14	136	41, 53, 69, 79, 93, 107, 121 dan 136	β -pinen
11	9,223	5,60	136	39, 53, 68, 79, 93, 107, 121 dan 136	Limonene
24	24,493	26,46	192	39, 53, 65, 77, 91, 103, 119, 131, 147, 165, 177 dan 192	Myristicin



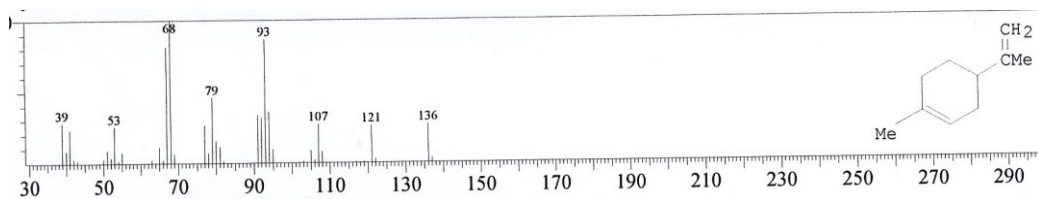
Gambar 2. Spektogram massa senyawa nomor puncak 2



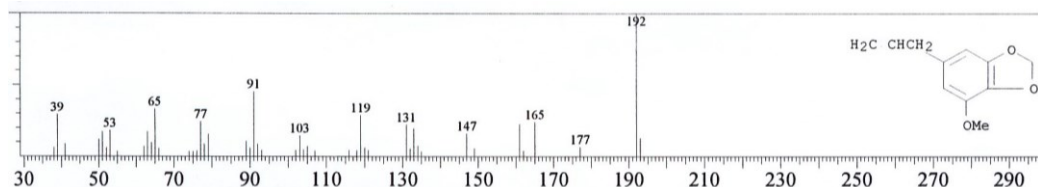
Gambar 3. Spektogram massa senyawa nomor puncak 4



Gambar 4. Spektogram massa senyawa nomor puncak 5



Gambar 5. Spektogram massa senyawa nomor puncak 11



Gambar 6. Spektogram massa senyawa nomor puncak 24

Uji Toksisitas Minyak Atsiri Fuli Pala Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Untuk mengetahui toksisitas efektif dari minyak atsiri fuli pala sebagai larvasida dilakukan uji toksisitas terhadap minyak atsiri fuli pala hasil isolasi dengan menggunakan larva *Aedes aegypti* sebagai hewan ujinya. Larva nyamuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III akhir. Pada penelitian ini pemilihan instar larva menjadi bagian yang penting karena larva tersebut menjadi obyek dalam penelitian ini. Apabila salah memilih instar larva maka akan mengakibatkan tingkat kematian larva yang terlalu cepat sehingga akan didapatkan *Lethal Concentration* (LC) yang tidak sesuai dengan target penelitian [7]. Pada penelitian ini dilakukan dua uji yaitu uji pendahuluan dan uji toksisitas utama.

Uji Pendahuluan

Hasil uji pendahuluan disajikan dalam Tabel 4 yang menunjukkan bahwa nilai LC₅ pada konsentrasi 100 ppm sedangkan nilai LC₉₀ pada konsentrasi 300 ppm.

Tabel 4. Hasil Uji Pendahuluan Minyak Atsiri Fuli Pala

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati		Keterangan
	Ulangan		
	I	II	
Kontrol	0	0	
70	0	0	
90	0	0	
100	1	1	LC ₅
300	18	18	LC ₉₀
500	20	20	
700	20	20	

Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi ambang atas (LC₉₀) dan ambang bawah (LC₅). Pada uji pendahuluan ini, ditentukan 6 konsentrasi dari minyak atsiri hasil isolasi di tambah 1 perlakuan kontrol. Larutan ekstrak-air uji digunakan

sebagai medium hidup larva. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah: 70, 90, 100, 300, 500, 700 dan 0 ppm tanpa ekstrak sebagai kontrol. Uji tersebut bertujuan untuk melihat kisaran konsentrasi yang dapat digunakan dalam penelitian utama.

Uji Toksisitas Utama

Uji toksisitas utama ini digunakan untuk menentukan konsentrasi efektif (LC₅₀) yang dapat digunakan untuk membunuh larva *Aedes aegypti* instar III akhir. Pengujian dilakukan pada suhu kamar. Kisaran konsentrasi yang digunakan pada uji utama ini adalah berdasarkan hasil uji pendahuluan antara LC₉₀ dan LC₅, dimana konsentrasi yang digunakan adalah 100, 150, 200, 250, 300 ppm dan blanko sebagai kontrol. Hasil uji dikatakan efektif apabila ekstrak yang diujikan menyebabkan 50% kematian hewan uji pada LC₅₀. Hasil uji toksisitas minyak atsiri terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 5, 4.6 dan 4.7.

Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Akhir Setelah 6 Jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati						
	Ulangan ke-					Σ rata-rata	%kematian
	I	II	III	IV	V		
100	1	0	0	1	1	0,6	3
150	2	4	3	4	2	3	15
200	4	2	4	9	10	5,8	29
250	10	12	13	15	15	13	65
300	15	15	16	16	18	16	80
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 6. Hasil Uji Toksisitas Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Akhir Setelah 12 Jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati						%kematian
	Ulangan ke-					Σ rata-rata	
	I	II	III	IV	V		
100	4	5	4	5	6	4,8	24
150	8	7	5	8	12	8	40
200	14	9	8	16	19	13,2	66
250	19	19	19	19	20	19,2	96
300	20	20	20	20	20	20	100
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 7. Hasil Uji Toksisitas Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Akhir Setelah 24 Jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati						%kematian
	Ulangan ke-					Σ rata-rata	
	I	II	III	IV	V		
100	6	8	7	5	12	7,6	38
150	17	17	16	16	17	16,6	83
200	17	18	17	20	20	18,4	92
250	20	20	20	20	20	20	100
300	20	20	20	20	20	20	100
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0

Dari Tabel 5 tersebut dapat dilihat rata-rata kematian larva 6 jam setelah perlakuan dari tiap konsentrasi. Pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 3% dan konsentrasi tertinggi 300 ppm dapat membunuh 80% larva nyamuk.

Sedangkan dari Tabel 6 tersebut dapat dilihat rata-rata kematian larva 12 jam setelah perlakuan dari tiap konsentrasi. Pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk sebanyak 24% dan pada konsentrasi tertinggi 300 ppm dapat membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Kemudian dari Tabel 7 tersebut dapat dilihat rata-rata kematian larva 24 jam setelah perlakuan dari tiap konsentrasi. Pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk sebanyak 38%. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi 250 ppm dan 300 ppm dapat membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Uji analisis probit memberikan hasil bahwa untuk waktu pengamatan 6 jam setelah perlakuan LC_{50} terletak pada konsentrasi 224,399 ppm, sedangkan untuk waktu 12 jam setelah perlakuan LC_{50} terletak pada konsentrasi 150,724 ppm dan untuk waktu pengamatan 24 jam setelah perlakuan LC_{50} terletak pada konsentrasi 111,002 ppm.

Uji toksisitas utama menggunakan bahan uji minyak atsiri diatas selanjutnya dibandingkan dengan bahan uji hasil maserasi fraksi metanol. Perbandingan dalam

penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas larvasida dengan membandingkan toksisitas efektif (LC_{50}) dari kedua bahan uji. Hasil uji toksisitas menggunakan ekstrak metanol disajikan dalam Tabel 8 dan 4.9 sebagai berikut:

Tabel 8. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Akhir Setelah 24 Jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati					%kematian
	Ulangan ke-			Σ rata-rata		
	I	II	III			
100	3	1	4	2,67	13,35	
150	3	3	2	2,67	13,35	
200	3	2	3	2,67	13,35	
250	5	4	3	4	20	
300	8	11	9	9,33	46,65	
350	19	17	17	17,67	88,33	
Kontrol	0	0	0	0	0	

Tabel 9. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III Akhir Setelah 48 Jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Σ larva <i>Aedes aegypti</i> yang mati					%kematian
	Ulangan ke-			Σ rata-rata		
	I	II	III			
100	4	3	5	4	20	
150	5	5	3	4,33	21,65	
200	7	4	6	5,67	28,35	
250	7	7	7	7	35	
300	12	11	11	11,33	56,65	
350	20	20	20	20	100	
Kontrol	0	0	0	0	0	

Dari Tabel 8 tersebut dapat dilihat rata-rata kematian larva 24 jam setelah perlakuan dari tiap konsentrasi. Pada konsentrasi 100, 150 dan 200 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 13,35% dan pada konsentrasi 300 ppm dapat membunuh 46,65% larva nyamuk sedangkan pada konsentrasi tertinggi 350 ppm dapat membunuh larva nyamuk sebanyak 88,33%.

Sedangkan dari Tabel 9 tersebut dapat dilihat rata-rata kematian larva 48 jam setelah perlakuan dari tiap konsentrasi. Pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 20% dan pada konsentrasi 300 ppm dapat membunuh 56,65% larva nyamuk sedangkan pada konsentrasi tertinggi 350 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 100%.

Uji analisis probit memberikan hasil bahwa untuk waktu pengamatan 24 jam setelah perlakuan LC_{50} terletak pada konsentrasi 304,434 ppm, sedangkan

untuk waktu 48 jam setelah perlakuan LC_{50} terletak pada konsentrasi 284,200 ppm.

Dari uji toksisitas tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri fuli pala hasil isolasi lebih berpotensi sebagai larvasida dibandingkan dengan ekstrak metanol fuli pala.

4. Kesimpulan

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa isolasi minyak atsiri dari fuli pala (*Myristica fragrans*) dengan metode destilasi uap yang diperoleh berwarna kuning jernih, berbau khas pala, dengan rendemen 3,22%, berat jenis 0,9397 g/mL dan indeks bias 1,493 pada (25°C). Hasil analisis dengan metode GC-MS menunjukkan minyak atsiri fuli pala mengandung komponen α -pinen (13,08%), β -pinen (15,14%), sabinene (22,93%), limonene (5,60%), safrol (3,62%) dan miristisin (26,46%). Dan uji aktivitas sebagai larvasida, minyak atsiri menunjukkan nilai LC_{50} -6 jam sebesar 224,399 ppm, LC_{50} -12 jam sebesar 150,724 ppm dan LC_{50} -24 jam sebesar 111,002 ppm. Sedangkan ekstrak metanol menunjukkan nilai LC_{50} -24 jam sebesar 304,434 ppm dan LC_{50} -48.

5. Referensi

- [1] A. T. Shulgin, Possible implication of myristicin as a psychotropic substance, *Nature*, 210 (1966) 380-384.
- [2] Henk Maarse, *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, Marcel Dekker, New York, 1991.
- [3] Matthew J. Ellenhorn, Donald G. Barceloux, *Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, Elsevier, 1988.
- [4] T.E. Wallis, *Textbook of Pharmacognosy*, 4 ed., J. & A. Churchill Ltd., London, 1960.
- [5] Jos Janssens, Gert M. Laekeman, Lug A. C. Pieters, Jozef Totte, Arnold G. Herman, Arnold J. Vlietinck, Nutmeg oil: Identification and quantitation of its most active constituents as inhibitors of platelet aggregation, *Journal of Ethnopharmacology*, 29 (1990) 179-188.
- [6] A. Tawatsin, P. Asavadachanukorn, U. Thavara, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, T. Boonruad, P. Chavalittumrong, N. Soonthornchareonnon, N. Komalamisra, M. S. Mulla, Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 37 (2006) 915-931.
- [7] Dewi Susanna, A. Rahman, Eram Tunggal Pawenang, Potensi Daun Pandan Wangi untuk Membunuh Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 2 (2003) 228-231.